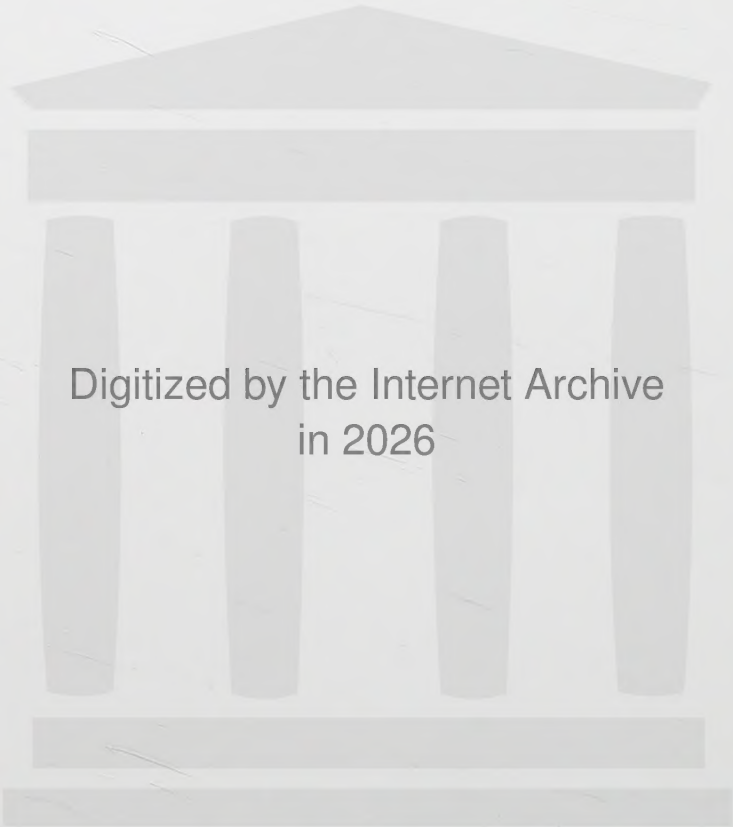
Quantitative Bestimmung von Flavonen und Tanninen mit Hilfe der Titrationsmethoden nach Schwarzenbach

Friedrich E. Rentschler

1962


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545804_0011

Quantitative Bestimmung von Flavonen und Tanninen mit Hilfe der Titrationsmethoden nach Schwarzenbach

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt

von

Friedrich E. Rentschler

aus

Laupheim/Württ.

Mai 1962

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Berichterstatter: Professor Dr. L. H ö r h a m m e r

Tag der mündlichen Prüfung: 25. 7. 1962

INHALTSÜBERSICHT

Seite

EINLEITUNG 1

ALLGEMEINER TEIL 2

A. Qualitative Nachweise von Flavonen und Flavonolen durch Metall-Chelatbildner 2

I. Zur Frage der anwendbaren Titrationsmethoden . . . 8
II. Die Wahl des Komplexbildners 12
III. Die Wasserstoffionen-Konzentration des Reaktionsgemisches 14

B. Bestimmung der relativen Stabilität einiger Flavon-Kupfer-Komplexe 15

C. Ausarbeitung von komplexometrischen Bestimmungsmethoden für Quercetin, Rutin, Quercitrin und Fisetin . . . 20

I. Quercetinbestimmung 20
II. Versuch einer jodometrischen Bestimmung von Quercetin 25
III. Rutinbestimmung 26
IV. Quercitrinbestimmung 28
V. Fisetinbestimmung 29

D. Quantitative-titrimetrische Bestimmung von Flavonen . 31

I. Bestimmung von Rutin in Birutan-Tabletten "Merck" . 31
II. Bestimmung von Rutin in Rutinion Tabletten "Rhein-Chemie" 33
III. Bestimmung von Rutin in Rutinion Ampullen von "Rhein-Chemie" 33
IV. Bestimmung von Quercetin und Rutin nebeneinander . 35

E. Versuche zur titrimetrischen Bestimmung von Tannin . . 39

F. Komplexometrische Bestimmung des Tannins 51

EXPERIMENTELLER TEIL 58

I. Bestimmung des zeitlichen Ablaufs der Komplexbildung zwischen Morin und Kupfer 58

Seite

II. Bestimmung der Stabilitätskonstante des Quercetin-Kupfer-Komplexes 2:1 58
1. Quercetinlösung Q 58
2. Kupfersulfatlösung K 59

III. Titrimetrische Bestimmung von Quercetin durch Ausfällen des Blei-Komplexes 59

IV. Bestimmung der relativen Stabilität einiger Flavon-Kupfer-Komplexe 63

V. Quantitative titrimetrische Bestimmung von Flavonen bzw. Flavonolen durch Ausfällen der Kupfer-Komplexe . . 65
1.) Bestimmungen von Quercetin und Fisetin o h n e Natriumazetatzusatz 65
2.) Bestimmung von Quercetin m i t Natriumazetat-zusatz 69
3.) Bestimmung von Rutin m i t Natriumazetatzusatz . 71
4.) Bestimmung von Quercitrin m i t Natriumazetat-zusatz 73
5.) Bestimmung von Fisetin m i t Natriumazetat-zusatz 75

VI. Jodometrische Bestimmung von Quercetin 77

VII. Aufnahme der UV-Spektren des 2:1- und 1:1-Quercetin-Kupfer-Komplexes 80

VIII. Komplexometrische Bestimmung von Flavonen in pharmazeutischen Präparaten 81
1.) Bestimmung von Rutin in Birutan-Tabletten 81
2.) Bestimmung von Rutin in Rutinion-Tabletten 83
3.) Bestimmung von Rutin in Rutinion-Ampullen 84

IX. Nebeneinander-Bestimmung von Quercetin und Rutin . . . 87
1.) Quercetin-Rutin-Gemisch 1:1 87
2.) Rutin-Quercetin-Gemisch 3:1 und 6:1 90

X. Untersuchungen über das Kupfer-Komplexbildungsvermögen von m-Digallussäure "Roth" 94
1.) Ausführung o h n e Natriumazetatzusatz 94
2.) Ausführung m i t Natriumazetatzusatz 96

Seite

XI. Komplexometrische Bestimmung des Tannins 99
1.) Ausführung o h n e Natriumazetatzusatz 99
2.) Ausführung m i t Natriumazetatzusatz 101

XII. Bestimmung des Tannin-Gehaltes in zwei verschiedenen Qualitäten Tannin 103
1.) Bestimmung nach der Hautpulvermethode 103
2.) Bestimmung nach der Kupferazetatmethode 105
3.) Bestimmung nach der komplexometrischen Methode mit Kupfersulfatlösung 107

E I N L E I T U N G

Seit der Einführung neuer Komplexbildner durch SCHWARZENBACH[1)2)] hat sich das Anwendungsgebiet der titrimetrischen Analyse ständig erweitert. Trotz der zahlreichen zur Verfügung stehenden photoelektrischen Bestimmungsmethoden ist die sogenannte komplexometrische Titration in der Praxis wegen ihrer raschen und einfachen Ausführung in vielen Fällen die Methode der Wahl geworden.

In der Pharmazie ergibt sich für die zahlreichen Arzneimittel ein weites und wichtiges Anwendungsgebiet, da die quantitative Bestimmung einzelner Arzneistoffe in den Untersuchungslaboratorien und in der Apotheke zur routinemäßigen Kontrolle gehört.

In der vorliegenden Arbeit sollte die Anwendungsmöglichkeit titrimetrischer Verfahren und hier vor allem der Komplexometrie zur Bestimmung von Flavonen und Tanninen untersucht werden. Beide Naturstoffe sind Bestandteil einer Reihe wichtiger Arzneipräparate.

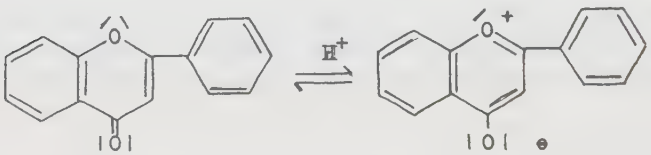
---

1) G.SCHWARZENBACH, Die komplexometrische Titration (Die chemische Analyse), Band 45, Verlag F.Enke, Stuttgart (1957)
2) G.SCHWARZENBACH u. H.ACKERMANN, Helv.Chim.Acta 31, 1029 (1948) und 32, 1175 (1949)

A L L G E M E I N E R T E I L

A. Qualitative Nachweise von Flavonen und Flavonolen durch Metall-Chelatbildner

In einer Reihe von qualitativen und quantitativen Nachweisverfahren wird die Eigenschaft der Flavone bzw. Flavonole, mit Metallen intensiv gefärbte Chelate zu bilden, analytisch ausgenützt. Diese Bathochromieerscheinung wird durch eine Änderung der Bindungs- und Resonanzverhältnisse im Molekül hervorgerufen. Bekanntlich stellt das Flavonmolekül ein Resonanzsystem dar, in dem die beiden Formen I und II dominieren.



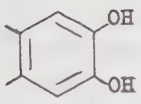
I II

Im neutralen Medium überwiegt die Form I, während bei Zusatz von H-Ionen die Form II in Gestalt einer konjugierten Säure den Hauptanteil der Resonanz tragen dürfte[3]. Dies findet in einer Verschiebung der Flavonbande zum langwelligen seinen Ausdruck. In den Metall-Chelaten wird die mesomere Form II besonders stabilisiert, so daß diese auch hier in erster Linie vorliegen muß.

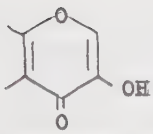
Man spricht von einer Chelatbildung, wenn eine mit Metallionen reagierende Substanz über zwei oder mehr Gruppen mit Donatoreigenschaften verfügt, so daß es im Verlauf der Reaktion zur Ausbildung von Ringsystemen kommen kann.

Bei den meisten natürlich vorkommenden Flavonen und Flavonolen handelt es sich um Polyphenole, die ein oder mehrere der folgenden Strukturmerkmale besitzen:

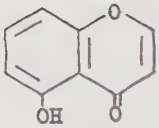
3) L.P.HAMMETT, Physical Organic Chemistry, New York 1940, S. 48



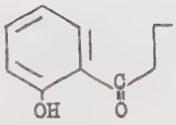
III



IV



V



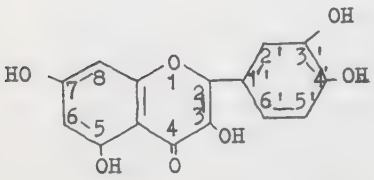
VI

o-Dihydroxy-phenole (III) liegen vor im Catechin, gewissen Anthocyanidinen, Leucoanthocyanidinen und den Flavanonen. Das 3-Hydroxy-chromon (IV) ist vertreten durch Flavonole, das 5-Hydroxy-chromon- und chromanone (V), durch zahlreiche Flavone, Isoflavone, Flavanone und nichtflavonoide 2-Methyl-chromone. Die o-Hydroxycarbonyl-Struktur (VI) findet sich in den Chalconen, Dihydrochalconen und Auronen. Diese Gruppierungen können auch zusammen in einer Substanz vorkommen. So vereinigt z.B. Quercetin in sich die Gruppierung III, IV, V. Butein enthält die Strukturmerkmale III und VI, Luteolin III und IV[4].

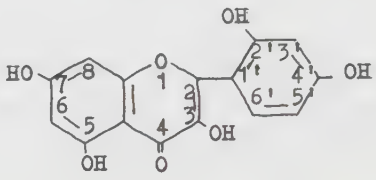
Für die qualitative und namentlich für die quantitative Bestimmung von Flavonen und Flavonolen durch Metallchelatbildung ist die genaue Kenntnis des Chelatbildungsvermögens und der Stabilität der Chelate erforderlich, denn beide sind von der Struktur abhängig. Die einfachste Anwendung findet diese Methode beim Nachweis bestimmter struktureller Merkmale in einer Verbindung. So behandelt man beispielsweise papierchromatographisch aufgetrennte Flavone und Flavonole mit Aluminiumchlorid[5], basischem

4) K.BÖHM, Arzneimittel-Forsch. 10, 468 (1960)
5) L.HÖRHAMMER, R.HÄNSEL u. W.HIEBER, Naturwissenschaften 41, 529 (1954)

und neutralen Bleiazetat[6], Zirkonoxychlorid[7], Kupfer-II-sulfat[8], basischem Kupfercitrat (Benedicts-Reagens)[9][10] oder Borsäure[11][12][13] und enthält typische im UV-Licht oder im Sichtbaren erkennbare Färbungen, die analytisch auswertbar sind bzw. zur Unterscheidung von Substitutionstypen dienen können.



VII



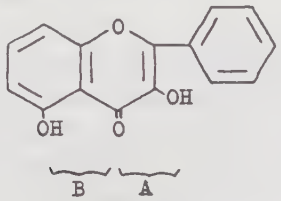
VIII

So zeigen beispielsweise Quercetin (VII) und Morin (VIII), die ein freies Hydroxyl am C_5 besitzen, aber über unterschiedliche OH-Substitution im Seitenphenyl verfügen, als Chelate mit einer organischen Borverbindung, ein stark voneinander abweichendes Verhalten[14]. Quercetin liefert eine intensive gelbe Fluoreszenz, die beim Morin durch das am C_2 befindliche Hydroxyl nach grün modifiziert ist.

---

6) T.RAO u. T.A.SESHADRI, Proc.Indian Acad.Sci., 171, 119 (1943)
7) L.HÖRHAMMER u. R.HÄNSEL, Arch.Pharmaz.Ber.detsch.pharmaz.Ges. 286/58, 153, 425 (1953)
8) W.G.CLARC u. T.A.GEISSMAN, Biolog.Antioxydants, Trans.3rd Conf. 92 (1948)
9) T.B.GAGE, C.D.DOUGLAS u. S.H.WENDER, Analytic.Chem. 23, 1583 (1951)
10) H.REZNIK u. K.EGGER, Z.analyt.Chem. 183, 196 (1961)
11) C.W.WILSON, J.Amer.chem.Soc. 61, 2303 (1939)
12) M.L.WOLFROM, J.E.MAHAN, P.W.MORGAN u. G.F.JOHNSON, J.Amer.chem. Soc. 63, 1248 (1941)
13) K.TAUBÖCK, Naturwissenschaften 30, 439 (1942)
14) R.NEU, Chem.Ber. 87, 802 (1954)

Innerhalb einer homologen Reihe von Hydroxyflavonen hängt beispielsweise die Stabilität der Zirkonkomplexe auch von der Ringgröße ab. So läßt sich die Farbreaktion bei Flavonen mit ortho-Enolstruktur (A) (siehe Abb. IX) durch Zusatz von Zitronensäure nicht unterdrücken, während bei Flavonen mit bloßer β-Enolgruppe (Peristellung) (B) die gelbe Farbe durch Zitronensäure nahezu völlig gelöscht werden kann.



IX

In ähnlicher Weise hat WILSON[15] auch die unterschiedliche Stabilität des Borsäure- bzw. Oxalsäurekomplexes in Gegenwart von Zitronensäure zum spezifischen Nachweis von 5-Hydroxyflavonen und ihren Glykosiden herangezogen. Von TAUBÖCK wurde die Wilson'sche Borsäurereaktion modifiziert und die Zitronensäure durch Oxalsäure ersetzt[16].

Die eben beschriebenen qualitativen Nachweise durch Metallchelatbildung eignen sich naturgemäß auch zur quantitativen Bestimmung von Flavonen bzw. Flavonolen. Dabei kann die auftretende Farbintensität entweder kolorimetrisch oder spektrophotometrisch ausgewertet werden.

Neben der Kupplung mit Diazonium-Salzen[17)18)19)], der Hydrierung zu Flavylium-Salzen[20)21)] und der Komplexbildung mit

15) C.W.WILSON, J.Amer.chem.Soc. 61, 2303 (1939)
16) K.TAUBÖCK, Naturwissenschaften, 30, 439 (1942)
17) J.DAVIDEK u. J.FRAGNER, Československ. Farmac., 6, 449 (1957)
18) V.BREJCHA u. P.HORRAK, Nature (London) 181, 505 (1958)
19) M.KUCERA, Československ. Farmac. 7, 436 (1958)
20) J.VALENTIN u. G.WAGNER, Pharmaz.Zentralhalle Deutschland 91, 292 (1952)
21) B.BORKOWSKI u. S.CZYSZEWSKA, Biul.Inst.Roslin leczniczych 4, 340 (1958)

Borsäure-Zitronensäure[22)23)24)] wird bevorzugt die Chelatbildung mit mehrwertigen Metallionen, so z.B. Antimon-III-chlorid[25)], Chrom(II)-Salzen[26)], Uranyl-Salzen[27)], Titan(IV)-Salzen[28)29)] und insbesondere Zirkonoxychlorid[30)] und Aluminiumchlorid[31)] verwendet.

Zur quantitativen serienmäßigen Bestimmung des Gehaltes an Flavonderivaten in Drogen haben COBET[32)] sowie CHRIST und MÜLLER[33)] die Komplexbildung mit Zirkonoxychlorid herangezogen.

Daneben finden zur Lösung solcher Aufgaben auch gravimetrische Methoden Anwendung[34)]. Der Nachteil dieser Verfahren liegt allerdings darin, daß hierfür erheblich größere Mengen Substanz erforderlich sind und außerdem relativ große Fehlerbreiten auftreten. In einigen Fällen[35)36)] wurde auch die Polarographie mit Erfolg zur quantitativen Bestimmung verwendet.

---

22) C.W.WILSON, L.S.WEATHERBY u. W.Z.BOCK, Ind.Engng.Chem.analyt. Edit. 14, 425 (1942)
23) L.S.WEATHERBY u. L.S.CHENG, J.biol.Chemistry 148, 707 (1943)
24) A.R.GUSEVA u. M.N.NESTJUK, Biochemie (russ.) 18, 480 (1953)
25) D.G.R.CONSTANTINESCO u. R.OTELLANU, Acta polon.pharmac. 14, 27 (1957)
26) J.KUCHARSKY, Československ.Farmac. 6, 91 (1957)
27) T.BROSS u. U.BILINSKA, Acta polon.pharmac. 15, 394 (1958)
28) P.HAGEDORN u. R.NEU, Arch.Pharmaz.Ber.dtsch.pharmaz.Ges. 284/56, 486 (1953)
29) U.BILINSKA, Acta polon.pharmac. 15, 124 (1953)
30) L.HÖRHAMMER u. R.HÄNSEL, Arch.Pharmaz.Ber.dtsch.pharm.Ges. 284/56, 276 (1951)
31) A.RÖMISCH, Pharmazie 15, 33 (1960)
32) R.COBET, Dissertation München 1957
33) B.CHRIST u. K.H.MÜLLER, Arch.Pharmaz.Ber.dtsch.pharmaz.Ges. 293/65, 1033 (1960)
34) J.Y.GRIFFITH, C.F.KREWSON u. J.NAGHSKI, Rutin and Related Flavonoids, Mack Publishing Company Easton 1955, S. 23
35) J.DAVIDEK, Z.Lebensmittel-Unters.u.-Forsch. 112, 272 (1960)
36) T.A.GEISSMAN u. S.L.FRIESS, J.Amer.chem.Soc. 71, 3893 (1949)

Alle angegebenen quantitativen Methoden sind, abgesehen davon, daß sie komplizierte Geräte, wie Polarographen oder Spektrophotometer erfordern, relativ umständlich durchzuführen und daher für die Praxis wenig geeignet. Für die Praxis wäre deshalb eine einfache, rasche, dabei aber gut reproduzierbare und exakt arbeitende Methode wünschenswert.

Nachdem die Fähigkeit, Komplexe zu bilden, bei vielen Flavonen und Flavonolen bereits eingehender studiert worden war, lag es nahe, die besonders in den letzten Jahren durch SCHWARZENBACH[37] ausgearbeitete Methodik der Komplexometrie einzusetzen. Diese Methodik hätte den Vorteil, daß sie ohne größeren apparativen Aufwand durchführbar wäre und an Genauigkeit sicherlich den Erfordernissen der Praxis genügen würde.

Es war zunächst unser Ziel, zu untersuchen,

1. welche Flavone bzw. Flavonole überhaupt titrimetrisch bestimmbar sind,
2. festzulegen, in welchem Konzentrationsbereich gut reproduzierbare Werte zu erhalten sind und
3. ob diese Methoden zur quantitativen Bestimmung in pharmazeutischen Präparaten angewendet werden und gegebenenfalls auch für die Strukturaufklärung von Nutzen sein können.

37) G.SCHWARZENBACH, Die komplexometrische Titration (Die chem. Analyse) Bd. 45, Verlag F.Enke, Stuttgart (1957)

I. Zur Frage der anwendbaren Titrationsmethoden

Es wurde bereits dargelegt, daß sich die einzelnen Flavone und Flavonole, ihren unterschiedlichen Strukturen entsprechend, im Komplexbildungsvermögen stark voneinander unterscheiden.

Zunächst war zu klären

1.) ob eine Direkttitration des Flavons mit einer eingestellten Metallsalzlösung möglich ist,

2.) ob bei vorgelegtem Metallionenüberschuß eine Rücktitration des nicht gebundenen Metalles durchgeführt werden kann und

3.) ob eine Ausfällung von Flavon-Metallkomplexen und anschließende Titration des überschüssigen Metalles unter gewissen Versuchsbedingungen zu erreichen ist.

Soll bei der direkten Titration eines Flavons oder Flavonols mit einer eingestellten Metallsalzlösung ein eindeutiger Umschlagspunkt des Indikators erhalten werden, muß die Reaktion stöchiometrisch ablaufen und sich rasch vollziehen, eine Forderung, die allgemein für jede Art der Direkttitration erfüllt sein muß. Daß sich Metalle mit Flavonen in einem bestimmten stöchiometrischen Verhältnis umsetzen, ist bekannt und wurde im einzelnen von JOB[38], HÖRHAMMER[39] und MICHAL[40] durch spektrophotometrische Messungen bestätigt. Um zu prüfen, welche Zeit zur Gleichgewichtseinstellung benötigt wird, wurde von uns Morin in äthanolischer Lösung mit einer 6.36×10^{-5} mol. Kupfersulfatlösung titriert und parallel damit die Intensität der entstandenen Färbung in gewissen Zeitabständen bei einer Wellenlänge von 420 mμ gemessen. Die Untersuchungen ergaben, daß erst nach mehreren Stunden ein Wert erreicht wurde, der einem Morin-Kupferkomplex im Verhältnis 1:2 entsprach. In einem

38) P.JOB, Ann.Chimie 10, 113 (1928)
39) L.HÖRHAMMER u. W.HIEBER, Naturwissenschaften 41, 529 (1954)
40) J.MICHAL, Collect.czechoslov.chem.Commun. 21, 576 (1956)

ähnlichen Fall ermittelte HIEBER[41] eine Zeit von 45 Minuten. Da durch Erhöhung der Temperatur die Komplexbildung beschleunigt werden kann, führten wir die gleiche Messung auch mit einer auf 80°C erwärmten Flavonlösung durch. Die Gleichgewichtseinstellung war hier sicher etwas beschleunigt, konnte aber nicht verfolgt werden, da ein Farbumschlag nicht erkennbar war.

Eine Direkttitration von Flavonen ist somit wegen der äußerst langsamen Gleichgewichtseinstellung unmöglich, ganz abgesehen davon, daß auch ein Farbumschlag von gelb nach orange nicht signifikant genug ist, um reproduzierbare Werte zu erhalten.

Um das Verfahren der Rücktitration, bei dem die nicht verbrauchte Metallmenge des zugegebenen Überschusses komplexometrisch bestimmt wird, anwenden zu können, muß die Stabilitätskonstante des Metallflavonchelates größer als die des Metall-ÄDTE*) sein oder das Metallion geht mit dem Flavon einen unlöslichen Komplex ein, so daß der Metallüberschuß nach Abfiltration ermittelt werden kann.

Die erste Bedingung ist nicht erfüllt, wenn man die von MARTELL und CALVIN[42] für den Kupfer-ÄDTE-Komplex ermittelte Stabilitätskonstante mit der einiger Kupfer-Flavon-Komplexe vergleicht. Während er für den Cu^{++}-ÄDTE-Komplex von den obigen Autoren zu log K = 18.3 bestimmt wurde, ermittelten wir für Quercetin nach einer Methode von DOWD[43] einen Wert von log K = 0.77670 -5.

Die Bestimmung basiert auf einem spektrophotometrischen Verfahren. Wir wählten eine äthanolische 3.76×10^{-4} molare Quercetinlösung und ermittelten die Extinktion bei 436 mμ, dem Maximum des Quercetin-Kupfer-Komplexes nach Zugabe unterschiedlicher Mengen Kupfersulfatlösung. Wie in späteren Mes-

---

41) W.HIEBER, Dissertation München 1954
42) A.E.MARTELL u. M.CALVIN, Die Chemie der Metallchelatverbindungen, Verlag Chemie, Weinheim 1958, Anhang I
43) L.E.DOWD, Analyt.Chem. 31, 1184 (1959)
*) ÄDTE = Aethylendiamintetraessigsäure

sungen gefunden wurde, bildet sich ohne Gegenwart von Natriumazetat bei Überschuß von Cu^{++}-Ionen ein 2:1-Komplex. Die Messungen erfolgten einmal ohne Cu-Überschuß, d.h. bei den stöchiometrisch berechneten Mengen und ein zweites Mal in Gegenwart eines 5fachen Überschusses an Kupfersulfat.

Wir ermittelten für das stöchiometrische Verhältnis bei der gewählten Verbindung eine Extinktion von 0.079 und bei vollständiger Chelatbildung einen Wert von 0.116. Die Berechnung von K geschieht nach Gleichung (1).

$$K = \frac{C \cdot \alpha^2}{1 - \alpha} \qquad (1)$$

$$\alpha = \frac{Ae - Ax}{Ae}$$

C = molare Konzentration

Ae = Extinktion bei vollständiger Chelatbildung (Überschuß an Cu^{++})

Ax = Extinktion bei stöchiometr. Verhältnis Quercetin : Cu^{++} = 2:1

$$K = \frac{C \cdot \left(\frac{Ae - Ax}{Ae}\right)^2}{1 - \frac{Ae - Ax}{Ae}}$$

$$K = \frac{4 \cdot 10^{-4} \cdot \left(\frac{0.116 - 0.079}{0.116}\right)^2}{1 - \frac{0.116 - 0.079}{0.116}}$$

$$K = \frac{4 \cdot 10^{-4} \cdot 10.176 \cdot 10^{-2}}{6.81 \cdot 10^{-1}} = 5.98 \cdot 10^{-5}$$

$$\log K = 0.77670 - 5$$

Dieses Ergebnis war nicht weiter überraschend, wenn man in Betracht zieht, daß die Höhe der Metall-ÄDTE-Stabilitätskonstanten nur selten von organischen Chelatbildnern erreicht

wird (siehe MARTELL und CALVIN[44]) und daß DOWD[45] für den Quercetin-Aluminium-Komplex eine Stabilitätskonstante von $K = 5.2 \cdot 10^{-5}$ (log K = 0.71600 -5) findet.

Zum Vergleich sei hier angeführt, daß HIEBER[46] für die nicht fällbaren Zirkonium (IV) polyoxyflavonkomplexe Stabilitätskonstanten um $K = 2.0 \times 10^{-6}$ angibt.

Somit blieb nur die Möglichkeit, die komplexometrische Bestimmung nach Ausfällung und Filtration im Filtrat durchzuführen. In diesem Falle wird die Fällbarkeit eines Metallchelates in Wasser

1. von der Stabilität des Chelats
2. von dem pH des Lösungsmittels und
3. von der Anzahl der hydrophilen Gruppen im Molekül des Chelatbildners bestimmt.

Außerdem ist zu berücksichtigen, daß einige Komplexe kolloidal in Lösung gehen können und sich nicht mehr quantitativ abtrennen lassen.

---

44) A.E.MARTELL u. M.CALVIN, Die Chemie der Metallchelatverbindungen, Verlag Chemie, Weinheim 1958, Anhang I
45) L.E.DOWD, Analyt.Chem. 31, 1184 (1959)
46) L.HÖRHAMMER, R.HÄNSEL u. W.HIEBER, Z.analyt.Chem. 148, 251 (1955)

II. Die Wahl des Komplexbildners

Die Ergebnisse quantitativer Messungen von Stabilitätskonstanten verschiedener Metalle mit einem Chelatbildner lassen erkennen[47], daß, wie von zahlreichen Autoren für die verschiedensten Stoffgebiete angegeben, die Stabilität eines Chelates unter anderem von dem Reaktionsvermögen des Metallions abhängt. Die Faktoren, die dieses Reaktionsvermögen bei den verschiedenen Metallen mit einem gegebenen Donator bestimmen, sind:

1. Die Ionenkräfte, die von der Ladung und vom Ionenradius des Metalls abhängen.
2. Die Fähigkeit der Metalle, mit Elektronendonatoren unpolare Bindungen einzugehen.

Diese Einflüsse gelten für Chelat- und Komplexbildner ohne Unterschied.

Bei den Chelaten spielen jedoch auch noch andere Faktoren, besonders solche stereochemischer Natur, eine Rolle, so daß die Deutung der experimentellen Befunde erschwert ist. Obwohl die Ergebnisse aus den Untersuchungen von MELLOR und MALLEY [48)49)] über die Elektronen- und Bindungsverhältnisse bei Chelaten sich nicht ohne weiteres verallgemeinern lassen, konnten diese Autoren doch feststellen, daß Palladium und Kupfer infolge starker quadratisch ebener (dsp^2) Bindungen zu sehr stabilen Chelaten führen. Ferner wiesen sie daraufhin, daß die Stabilität mit zunehmender Basizität des Metalles abnimmt, wobei sie folgende Reihenfolge aufstellten:

Pd > Cu > Ni > Pb > Co > Zn > Cs > Fe > Mn > Mg

Diese Stabilitätsreihe zweiwertiger Metalle wurde durch Untersuchungen mit anderen Chelatbildnern von IRVING und

---

47) A.E.MARTELL u. M.CALVIN, Die Chemie der Metallchelatverbindungen, Verlag Chemie, Weinheim 1958, Anhang I
48) D.P.MELLOR u. L.MALLEY, Nature (London) 159, 370 (1947)
49) D.P.MELLOR u. L.MALLEY, Nature (London) 161, 437 (1948)

und WILLIAMS[50], BJERRUM[51] und von CARLSON[52] sowie von LEY[53] und PFEIFFER[54] bestätigt.

Die Aufgabe bestand nun darin, diese allgemeinen Regeln experimentell an den Flavonen zu prüfen und für die quantitative Bestimmung den geeignetsten Komplexbildner herauszufinden.

Wie bereits aus der Literatur bekannt ist, erhält man bei Flavonen mit Magnesium, Eisen, Blei und Kupfer mehr oder weniger stark gefärbte Komplexe, die analytisch auswertbar sind. Entsprechend der Stabilitätsreihe bleiben die Eisen- und Magnesiumkomplexe in Lösung. Kupfer und Blei dagegen ergeben mit Quercetin Ausfällungen, die abfiltriert werden können, so daß das nicht gebundene Blei und Kupfer komplexometrisch zu bestimmen ist. Beim "hydrophileren" Rutin war aber eine Ausfällung unter den gleichen Bedingungen nicht mehr quantitativ möglich, ganz im Gegensatz zu den Angaben von BRUNE[55], der behauptet, Rutin lasse sich mit Bleiionen in neutraler Phosphatpufferlösung vollständig ausfällen. Nach unseren Untersuchungen bleibt die Hauptmenge des Rutins in Lösung und nur ein Teil des Rutins fällt als Komplex zusammen mit Bleiphosphat aus.

Aus obigen Erwägungen haben wir für unsere Untersuchungen das Kupfer-II-Ion ausgewählt, da es unter gewissen Bedingungen die Flavone bzw. Flavonole vollständig aus der Lösung ausfällt und außerdem die überschüssige Menge elegant nach der komplexometrischen Methode von SCHWARZENBACH[56] ermittelt werden kann.

---

50) H.IRVING u. R.J.P.WILLIAMS, Nature (London) 162, 746 (1948)
51) J.BJERRUM, Metal Ammine Formation in Aqueous Solution, P.Haase u. Sohn, Kopenhagen 1941
52) C.A.CARLSON, J.P.Mc.Reynolds u. F.H.VERHOEK, J.Amer.chem.Soc. 67, 1334 (1945)
53) H.LEY, Ber.dtsch.chem.Ges. 42, 354 (1909)
54) P.PFEIFFER, H.THIELERT u. H.GLASER, J.prakt.Chem. 152, 145 (1939)
55) W.BRUNE, Arch.Pharmaz.Ber.dtsch.pharmaz.Ges. 287/59, 432 (1954)
56) G.SCHWARZENBACH, Die komplexometrische Titration (Die chem. Analyse) Bd. 45, Verlag F.Enke, Stuttgart (1957)

III. Die Wasserstoffionen-Konzentration des Reaktionsgemisches

Die Bildung eines Flavon-Chelats läßt sich durch folgende Gleichung darstellen:

$$Me + x\ HFl = Me(Fl_x) + xH^+$$

Im Bildungsgleichgewicht solcher Chelate konkurrieren Metall- und Wasserstoffionen miteinander. Um den Komplex auszufällen, ist es also je nach der Stabilität des betreffenden Flavonchelates erforderlich, die entstehenden Wasserstoffionen abzufangen.

Wir haben unsere Untersuchungen deshalb jeweils mit und ohne Zusatz von Natriumazetat durchgeführt, wobei zur Ermittlung der relativen Chelatstabilität der Flavone in Erweiterung des Verfahrens von IRVING und WILLIAMS[57] für die jeweilige Bestimmungsmethode die Änderung der pH-Konzentration des Reaktionsgemisches herangezogen wurde.

Um über den Anwendungsbereich der Komplexometrie auf dem Flavongebiet einen möglichst guten Überblick zu bekommen, wurden Substanzen mit unterschiedlicher OH-Substitution zur Untersuchung ausgewählt. Im einzelnen prüften wir folgende Verbindungen:

Quercetin	-	3,5,7,3',4'-Pentahydroxyflavon
Rutin	-	Quercetin-3-rhamnoglukosid
Quercitrin	-	Quercetin-3-rhamnosid
Morin	-	3,5,7,2',4'-Pentahydroxyflavon
Fisetin	-	3,7,3',4'-Tetrahydroxyflavon
Apigenin-7-glykosid	-	5,7,4'-Trihydroxyflavon-7-glukosid

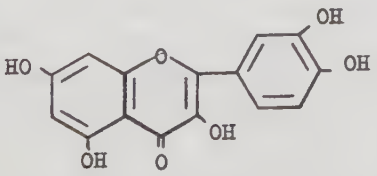
57) H.IRVING u. R.J.P.WILLIAMS, Nature (London) 162, 746 (1948)

B. Bestimmung der relativen Stabilität einiger Flavon-Kupfer-Komplexe

Die Bildung eines stöchiometrisch definierten Komplexes ist von der Stellung und Acidität der einzelnen OH-Gruppen im Molekül abhängig. Wie GEISSMAN und FRIES[58] bei ihren polarographischen Studien an einigen Flavonen gezeigt haben, herrscht hierin eine genaue Reihenfolge. Diese Gesetzmäßigkeit wurde von verschiedenen Autoren[59)60)61)] ausgenutzt, um durch Vergleich der Spektren in Alkohol und nach Natriumazetat- bzw. Natriumäthylatzusatz Aussagen über Zahl und Stellung bzw. Blockierung von OH-Gruppen machen zu können.

Da bei der Komplexbildung die Geschwindigkeit des Umsatzes oftmals durch Pufferung beschleunigt wird und erst die geeignete Gruppierung die volle Ausnutzung aller chelierfähigen Gruppen erreicht, haben wir im folgenden untersucht, wie die Bildung eines definierten Komplexes von der Mol-Menge Natriumazetat abhängt. In sämtlichen Fällen gingen wir von der gleichen Flavonmenge aus. Die Untersuchung umfaßte drei Aglykone und zwei Glykoside.

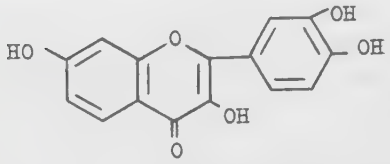
1.) Quercetin bildet, wie spätere Untersuchungen zeigen werden (siehe S. 20), ohne Natriumazetatzusatz mit Cu^{++} einen 2:1-Komplex. Steigende Mengen Natriumazetat bilden langsam den 1:1-Komplex aus, der 3.1 Mol Natriumazetat je Mol Quercetin zu seiner Stabilisierung benötigt (siehe Abb.XV).



X

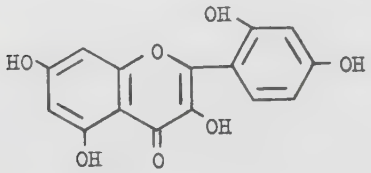
58) T.A.GEISSMAN u. S.L.FRIES, J.Amer.chem.Soc. 71, 3893 (1949)
59) L.JURD u. T.A.GEISSMAN, J.org.Chemistry 21, 1395 (1956)
60) G.H.MANSFIELD, T.SWAIN u. C.C.NORDSTRÖM, Nature (London) 172, 23 (1953)
61) T.A.GEISSMAN u. U.KRANEN-FIEDLER, Naturwissenschaften 43, 226 (1956)

2.) Fisetin bindet Kupfer ohne Natriumazetatzusatz nur in geringem Maße. Zur Ausbildung eines 2:1-Komplexes werden allerdings nur 1.2 Mol Natriumazetat je Mol Fisetin benötigt. Wie die dazugehörige Kurve (Abb. XV) erkennen läßt, kommt es bei weiterem Natriumazetatzusatz nicht zur Ausbildung des erwarteten 1:1-Komplexes, da hier offenbar wegen des fehlenden C_5-Hydroxyls keine Stabilisierung erreicht wird.



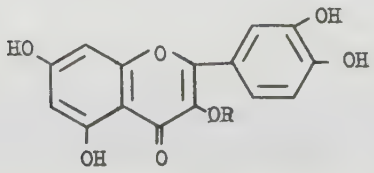
XI

3.) Morin erreicht ohne Natriumazetat nur knapp den 2:1-Komplex. Die Ausbildung des 1:1-Komplexes verlangt dagegen mindestens 13.4 Mol Natriumazetat je Mol Morin (siehe Tabelle 1c).



XII

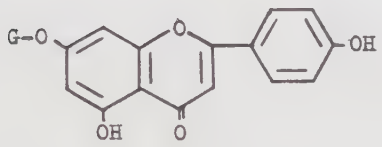
4.) Verglichen mit Quercetin benötigt 1 Mol Rutin 8.3 Mol Natriumazetat zur Bildung des 1:1-Komplexes, da die C_3-OH-Gruppe besetzt ist. Ohne Natriumazetat wird die Ausfällung des Komplexes nicht erreicht, da die Zucker-Komponente im Molekül diesen vermutlich in Lösung hält.



XIII

R = Rhamnoglukose

5.) Eine gewisse Ähnlichkeit mit Fisetin hat das Apigenin-7-glukosid hinsichtlich des Natriumazetatverbrauchs. Wie aus der graphischen Darstellung hervorgeht, führen 1.8 Mol Natriumazetat pro Mol Apigenin-7-glukosid zum 2:1-Komplex.



XIV

G = Glukose

Tabelle 1a - e enthält die Zahlenwerte, die in Abb. XV graphisch dargestellt sind. Die in den Tabellen angegebenen Mol-Mengen Natriumazetat beziehen sich auf 20 mg zu bestimmende Substanz.

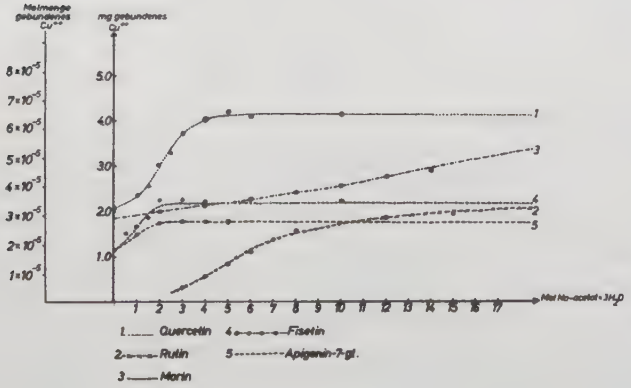


Abb. XV

T a b e l l e 1a

Quercetin Einwaage je 20 mg

Mol CH_3COONa	0	0.6	1.8	3.0	3.6
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	5.52	5.21	3.85	3.37	3.35
Gebundenes Cu^{++} in mg	2.03	2.34	3.70	4.18	4.20
Mol Cu^{++} gebunden = $10^{-5} \cdot x$	3.19	3.68	5.82	6.58	6.61
Gefundene Menge Flavon in mg	10.23	11.76	18.64	21.06	21.16

T a b e l l e 1b

Fisetin Einwaage je 20 mg

Mol CH_3COONa	0	0.3	0.6	1.2	6.0
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	6.44	6.04	5.88	5.32	5.32
Gebundenes Cu^{++} in mg	1.11	1.51	1.67	2.23	2.23
Mol Cu^{++} gebunden = $10^{-5} \cdot x$	1.75	2.38	2.63	3.51	3.51
Gefundene Menge Flavon in mg	4.98	6.81	7.50	10.02	10.02

T a b e l l e 1c

Morin Einwaage je 20 mg

Mol CH_3COONa	0	3.6	8.4	12.0	18.0
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	5.70	5.30	4.65	4.14	3.66
Gebundenes Cu^{++} in mg	1.85	2.25	2.90	3.41	3.89
Mol Cu^{++} gebunden = $10^{-5} \cdot x$	2.91	3.54	4.56	5.36	6.12
Gefundene Menge Flavon in mg	9.84	11.97	15.43	18.14	20.70

Tabelle 1d

Rutin Einwaage je 20 mg

Mol CH_3COONa	1.2	2.4	4.2	6.0	9.1
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	7.504	6.99	6.22	5.82	5.62
Gebundenes Cu^{++} in mg	0.046	0.56	1.33	1.73	1.93
Mol Cu^{++} gebunden = $10^{-5} \cdot x$	0.072	0.88	2.09	2.72	3.04
Gefundene Menge Flavon in mg	0.48	5.85	13.90	18.08	20.17

Tabelle 1e

Apigenin-7-Glucosid Einwaage je 20 mg

Mol CH_3COONa	0	0.6	1.2	1.8	2.4
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	6.41	6.00	5.82	5.80	5.81
Gebundenes Cu^{++} in mg	1.14	1.55	1.73	1.75	1.74
Mol Cu^{++} gebunden = $10^{-5} \cdot x$	1.79	2.44	2.72	2.75	2.74
Gefundene Menge Flavon in mg	7.78	10.60	11.76	11.93	11.84

Wie aus den Tabellen und den Kurvenbildern hervorgeht, sind die relativ stark aciden OH-Gruppen in C_3 und C_7-Stellung für die Ausbildung eines definierten Komplexes entscheidend. Das Apigenin-7-glucosid erreicht schon mit 1 Mol Natriumazetat einen stabilen, ausfällbaren 2:1-Komplex, da hier nur die Konfiguration C_5-OH-C_4= O vorliegt. Die Stabilisierung wird durch das Hydroxyl in $C_{4'}$-Stellung erreicht. Beim Quercetin wird die Bildung des 1:1-Komplexes mit etwa 5 Mol Natriumazetat, beim Fisetin mit fehlender C_5-OH-Gruppe, auch mit 10 Mol nicht erreicht. Es kommt im letzten Fall nur zu einem 2:1-Komplex. Eine Komplexbildung im Seitenphenyl unterbleibt. Vermutlich fehlt die notwendige Stabilisierung. Dagegen kann man bei Rutin, allerdings mit einem großen Überschuß von Natriumazetat, noch einen 1:1-Komplex erreichen. Morin benötigt noch mehr Natriumazetat, damit es zur Ausbildung eines 1:1-Komplexes kommt. Die Ursache ist in der Halbazetalbildung zwischen dem C_3 und $C_{2'}$- OH des Moleküls zu suchen.

C. Ausarbeitung von komplexometrischen Bestimmungsmethoden für Quercetin, Rutin, Quercitrin und Fisetin

Um die Bedingungen festzulegen, unter denen ein Flavon komplexometrisch mit reproduzierbarem Ergebnis bestimmt werden kann, dienten die folgenden Versuche.

Es wurden eine Reihe von Flavonen ohne und mit Zusatz von Natriumazetat mit Kupfer zur Reaktion gebracht und die mittleren Fehler für jede Bestimmungsart miteinander verglichen.

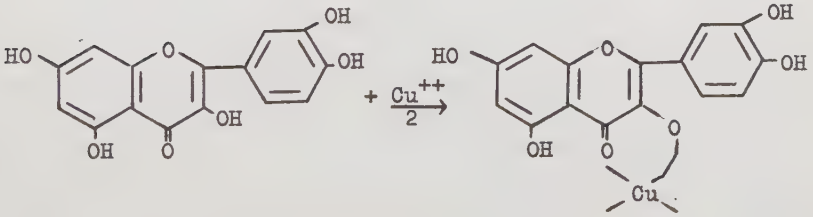
Wir arbeiteten in methanolisch-wässeriger Lösung (1:10) und verwendeten, je nach dem Molekulargewicht des zu bestimmenden Flavons bzw. Flavonols und des Verhältnisses des entstandenen Komplexes, zur Ausfällung der Komplexe einen 5- bis 20fachen Überschuß an Kupfer. In jedem Falle wurden die Filtrate nach der Abscheidung der Flavon-Kupfer-Komplexe papierchromatographisch auf Flavonfreiheit geprüft.

I. Quercetinbestimmung

Bringt man Quercetin ohne Natriumazetat mit 20fachem Überschuß der stöchiometrisch berechneten Menge an Kupfer zur Reaktion, so entsteht, wie aus Tabelle 2 ersichtlich ist, eindeutig der 2:1-Komplex, verdeutlicht durch die Formelbilder XVI und XVII.

Tabelle 2

Bestimmung	I	II
Einwaage in mg	22.20	20.20
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.51	7.51
Freies Cu^{++} in mg	5.29	5.51
Verbrauch 1/100 mol.Titriplex-III-Lösung	3.49	3.14
Gebundenes Cu^{++} in mg	2.22	2.00
Mol Cu^{++} gebunden $= 10^{-5} \cdot x$	3.49	3.15
Gefundene Menge Flavon in mg, ber. für Flavon : Cu^{++} 1:1-Komplex	11.18	10.06
Berechnete Menge Flavon in mg, ber. für Flavon : Cu^{++} 2:1-Komplex	22.36	20.12
Fehler ± %	+ 0.7	- 0.4
Mittlerer Fehler von 10 Titrationen	+ 0.2% (siehe Fehlerrechnung)	

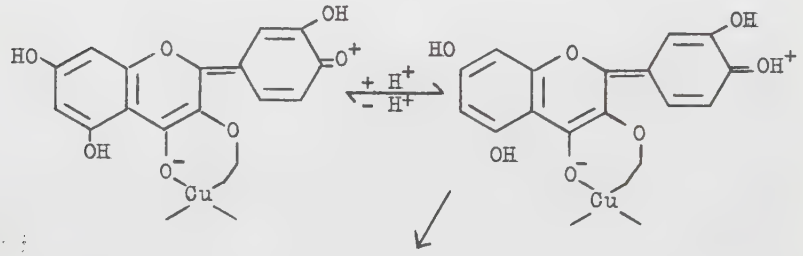


XVI XVII

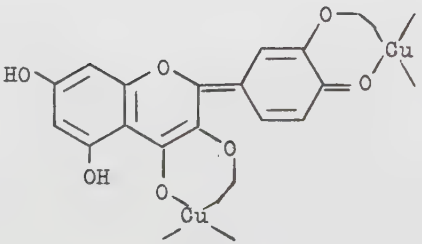
Der mittlere Fehler von 10 Titrationen beträgt laut Fehlerrechnung ± 0.2%. Erniedrigt man die Einwaage um die Hälfte, so ist auch dann noch eine Bestimmung ohne weiteres möglich, wenngleich sich der mittlere Fehler auf ± 0.4% erhöht.

Führt man nun die Bestimmung in Gegenwart von überschüssigem Natriumazetat durch, so erhält man, wie erwartet (siehe S. 19), den 1:1-Komplex im Sinne der Formeln XVIII bis XX.

Bei den Versuchen wurden jeweils 5 g Natriumazetat zugegeben, so daß sich das Mol-Verhältnis von Natriumazetat : Quercetin = 159:1 gestaltet.

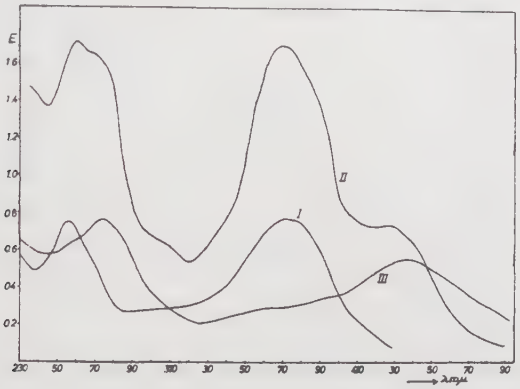


XVIII XIX



XX

Das untenstehende Kurvenbild zeigt die Veränderungen bzw. Verschiebungen der Maxima bei den Kupfer-Quercetin-Komplexen und das reine Quercetin-Spektrum.



Erklärung:

I = Quercetin

II = Quercetin : Kupfer = 2:1

III = Quercetin : Kupfer = 1:1

Tabelle 3

Bestimmung	I	II
Einwaage in mg	21.60	20.90
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.51	7.51
Freies Cu^{++} in mg	3.21	3.33
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	6.77	6.58
Gebundenes Cu^{++} in mg	4.33	4.18
Mol Cu^{++} gebunden $= 10^{-5} \cdot x$	6.80	6.60
Gefundene Menge Flavon in mg, ber. für Flavon : Cu^{++} 1:1-Komplex	21.68	21.07
Fehler $\pm$ %	+ 0.4	+ 0.8
Mittlerer Fehler von 10 Bestimmungen	$\pm$ 0.5%	

Diese Deutung stimmt völlig mit den Befunden von GEISSMAN[62] überein, der auf Grund seiner spektrophotometrischen Untersuchungen zu dem gleichen Ergebnis kommt. Wir haben diese Versuche mit den im Titrationsversuch ermittelten Mol-Verhältnissen in rein äthanolischer Lösung durchgeführt und dabei gefunden, daß sich die formelmäßige Darstellung der Komplexbildung mit den spektralen Veränderungen decken. Während das Quercetin seine beiden Maxima bei 256 mμ und 372 mμ hat, ist der Quercetin-Kupfer-2:1-Komplex durch zwei Hauptmaxima bei 259 und 370 mμ und durch ein drittes kleineres Maximum bei 426 mμ gekennzeichnet. Beim 1:1-Komplex verschwindet das typische Quercetinspektrum und das langwellige Maximum verschiebt sich nach 437 mμ. Offenbar ist dieses Maximum für eine eingetretene Komplexbildung charakteristisch. Die starke bathochrome Verschiebung spiegelt die Änderung des C_6-C_3-Chromophors wider.

62) L.JURD u. T.A.GEISSMAN, J.organ.chem. 21, 1395 (1956)

F e h l e r r e c h n u n g

zur komplexometrischen Quercetin-Bestimmung

A) O h n e Zusatz von Natriumazetat

m	M	f	$10^8 \cdot f^2$	fm	Fm
0.993		-0.006	3 600		
1.004		+0.005	2 500		
1.002		+0.003	900		
0.998	$\frac{9.992}{10}$	-0.001	100	$\sqrt[2]{\frac{34\ 200 \cdot 10^{-8}}{10 - 1}}$	$\sqrt[2]{\frac{34\ 200 \cdot 10^{-8}}{10\ (10-1)}}$
1.002		+0.003	900		
0.989	= 0.999	-0.010	10 000	$= \frac{186 \cdot 10^{-4}}{3}$	$= \frac{186 \cdot 10^{-4}}{9.5}$
1.003		+0.004	1 600		
0.995		-0.004	1 600	= 0.0062	= 0.002
1.010		+0.011	12 100		
0.996		-0.003	900		

$f_w = 2/3 \cdot 0.0062 = 0.0041$	$F_w = 2/3 \cdot 0.002 = 0.0013$
$E_m = 0.999 \pm 0.002$	mittlerer Fehler $\pm$ 0.2%

B) M i t Zusatz von Natriumazetat

m	M	f	$10^8 \cdot f^2$	fm	Fm
0.995		-0.004	1 600		
0.993		-0.006	3 600		
0.983		-0.016	25 600		
0.967	$\frac{9.992}{10}$	-0.032	102 400	$\sqrt[2]{\frac{218\ 200 \cdot 10^{-8}}{10-1}}$	$\sqrt[2]{\frac{218\ 200 \cdot 10^{-8}}{10\ (10-1)}}$
1.015		+0.016	25 600		
1.005	= 0.999	+0.006	3 600	$= \frac{0.0466}{3}$	$= \frac{0.0466}{9.5}$
1.001		+0.002	400		
1.006		+0.007	4 900	= 0.0155	= 0.005
1.020		+0.021	44 100		
1.007		+0.008	6 400		

$f_w = 2/3 \cdot 0.0155 = 0.01$	$F_w = 2/3 \cdot 0.005 = 0.003$
$E_m = 0.999 \pm 0.005$	mittlerer Fehler $\pm$ 0.5%

Bezeichnung:

m = Quotient
M = Mittelwertquotient
f = Fehler zum Mittelwert
f_m = mittlerer Fehler der Einzelmessung
F_m = mittlerer Fehler des Mittelwertes
f_w = wahrscheinlicher Fehler der Einzelmessung
F_w = wahrscheinlicher Fehler des Mittelwertes
$E_m = M \pm F_m$

Tabelle 4

	M	$10^8 \cdot f^2$	fm	Fm	in %
Rutin mit Natriumazetat	0.993	99900	0.0105	0.0033	± 0.33
Fisetin ohne Natriumazetat	0.998	829500	0.034	0.0096	± 0.96
Quercitrin mit Natriumazetat	0.998	162900	0.0104	0.0042	± 0.42

II. Versuch einer jodometrischen Bestimmung von Quercetin

Da man Kupfer anstelle mit ÄDTE auch jodometrisch titrieren kann, haben wir zum Vergleich das Quercetin auch nach dieser Methode quantitativ bestimmt. Der Komplex wird wie üblich ausgefällt, abfiltriert und im Filtrat nach Zugabe von Schwefelsäure und Kaliumjodid das ausgeschiedene Jod mit Natriumthiosulfat titriert. Wir arbeiteten pro Versuch wiederum mit 20 mg Quercetin-Einwaage und erhielten die in Tabelle 5 in der linken Spalte aufgeführten Werte. Wie ein Vergleich mit den auf komplexometrischem Wege erhaltenen Zahlen zeigt, entsprechen sich die mittleren Fehler, so daß das jodometrische Verfahren ohne weiteres an Stelle der Komplexometrie durchgeführt werden kann. An Einfachheit und Schnelligkeit ist das jodometrische Verfahren allerdings dem komplexometrischen unterlegen.

Tabelle 5

Einwaage Quercetin in mg		Gefundene Menge Quercetin in mg	
		jodometrisch Quercetin:Cu^{++} = 2:1 a)	komplexometrisch Quercetin:Cu^{++} = 2:1 b)
1.	20.00	9.69	10.07
2.	20.00	9.54	9.96
3.	20.00	9.87	9.98
Mittlerer Fehler bei a) ± 0.6% b) ± 0.2%			

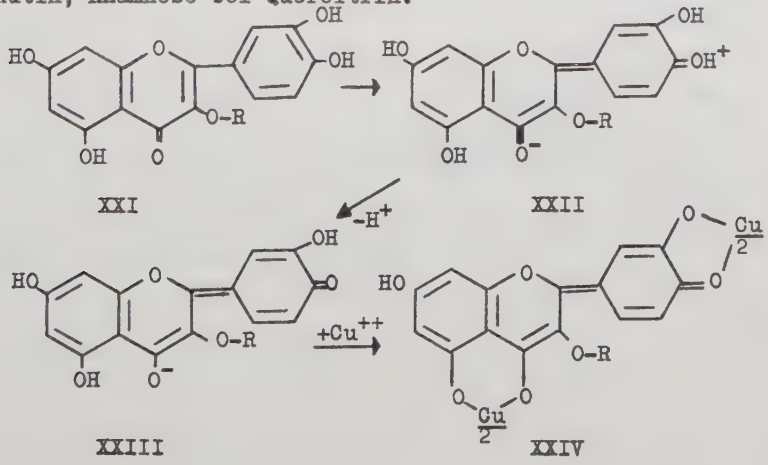
III. Rutinbestimmung

Bei Rutin war eine Ausfällung eines Komplexes im neutralen Medium wegen des vorhandenen Zuckeresters nicht zu erwarten (siehe S.16). Wir arbeiteten daher im schwach alkalischen Milieu und verwendeten 5 g Natriumazetat. Dies entspricht auf 1 Mol Rutin einer Menge von $13 \cdot 10^2$ Mol Natriumazetat, und ist das 5fache der zur Ausbildung des 1:1-Komplexes Erforderlichen (siehe S.17). Der hierbei entstehende braun gefärbte Niederschlag war filtrierbar. Wie aus der Tabelle 6 ersichtlich ist, entsprechen 20 mg Rutin Einwaage einem Kupferverbrauch von 2.13 - 2.02 mg. Wird der Berechnung ein Molekulargewicht von 664 für das Rutin-Trihydrat ($C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3\ H_2O$) zugrunde gelegt, so ergeben sich Werte, die gut mit der Bildung eines 1:1-Komplexes übereinstimmen. Der durchschnittliche Fehler beträgt nicht mehr als ± 0.33%.

Tabelle 6

Bestimmung	I	II
Einwaage in mg	21.90	21.00
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	5.42	5.53
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	3.35	3.18
Gebundenes Cu^{++} in mg	2.13	2.02
Mol Cu^{++} gebunden $= 10^{-5}$ x	3.32	3.18
Gefundene Menge Flavon in mg, ber. für Flavon : Cu^{++} 1:1-Komplex	22.26	21.13
Fehler ± %	+ 1.6	+ 0.6
Mittlerer Fehler von 10 Bestimmungen ± 0.33%		

Daß beim Rutin eine Komplexbildung im neutralen Milieu unterbleibt, war theoretisch vorherzusehen, da hier eine Komplexbildung am C_5-C_4 bzw. im Seitenphenyl nicht begünstigt ist. Dagegen zeigte sich, daß im schwach Alkalischen auch das C_5-Hydroxyl soweit ionisiert werden kann, daß es zur Ausbildung eines Sechsring-Chelates kommt. Die Bildung eines zweiten Komplexes im Seitenphenyl entspricht den vom Quercetin her bekannten Erscheinungen. Die formelmäßige Darstellung ergibt sich aus XXI, XXII, XXIII und XXIV. R = Rhamno-glukose bei Rutin; Rhamnose bei Quercitrin.



IV. Quercitrinbestimmung

Beim Quercitrin liegen dem Rutin analoge Strukturverhältnisse vor. Anstelle der Rhamnoglucose findet sich am C_3-Hydroxyl eine Rhamnose verestert vor. Die Ausfällung eines Komplexes im neutralen Milieu war gleichfalls nicht zu erwarten. Im Falle der Bestimmung mit Natriumazetat war es allerdings notwendig, die Kupfersulfatlösung zuerst mit Natriumazetat zu versetzen und das entstandene Kupferhydroxyd mit etwas Essigsäure wieder in Lösung zu bringen. Erst hinterher kann die Flavonlösung zugesetzt werden. Dabei entsteht der übliche Flavon-Kupfer-Komplex von orangegelber Farbe.

Wie die nachfolgende Tabelle ergibt, erhält man bei einem Überschuß an Natriumazetat Werte, die gut einem 1:1-Komplex entsprechen. Für die Berechnung wurde das Molekulargewicht von Quercitrin-Dihydrat (484) zugrunde gelegt.

T a b e l l e 7

Bestimmung	I	II
Einwaage in mg	21.60	22.90
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	4.70	4.56
Verbrauch 1/100 mol.Titriplex-III-Lösung	4.48	4.71
Gebundenes Cu^{++} in mg	2.85	2.99
Mol Cu^{++} gebunden $= 10^{-5} \cdot x$	4.48	4.70
Gefundene Menge Flavon in mg, ber. für Flavon : Cu^{++} 1:1-Komplex	21.70	22.82
Fehler ± %	+ 0.5	- 0.3
Mittlerer Fehler ± 0.42%		

V. Fisetinbestimmung

Fisetin besitzt kein C_5-Hydroxyl, aber sonst alle anderen komplexbildenden Strukturelemente des Quercetins bzw. Rutins. Die Bildung filtrierbarer Komplexe gelang sowohl mit, als auch ohne Natriumazetatzusatz. Überraschend war allerdings das Ergebnis, denn wie der Tabelle 8 zu entnehmen ist, erhält man im Falle der quantitativen Bestimmung ohne Natriumazetatzusatz Werte, die nur dem sechsten Teil der Einwaage entsprechen, wenn man die Verhältnisse von Quercetin und Rutin auf Fisetin überträgt. Man muß daher annehmen, daß das Kupfer koordinativ an 2 Mol Fisetin gebunden ist und jedes Fisetinmolekül seinerseits wieder mit zwei weiteren Molekülen fest assoziiert ist, wie es die folgende Schreibweise wiedergibt: $(Fi)_2Fi\text{-}Cu\text{-}Fi(Fi)_2$.

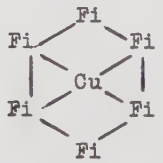


Tabelle 8

Bestimmung	I	II
Einwaage in mg	20.10	19.80
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	6.83	6.84
Verbrauch 1/100 mol.Titriplex-III-Lösung	1.13	1.12
Gebundenes Cu^{++} in mg	0.72	0.71
Mol Cu^{++} gebunden $= 10^{-5} \cdot x$	1.13	1.11
Gefundene Menge Flavon in mg, ber. für Flavon : Cu^{++} 1:1-Komplex	3.23	3.21
Berechnete Menge Flavon in mg, für Flavon : Cu^{++} 6:1-Komplex	19.38	19.26
Fehler ± %	- 3.6	- 2.7
Mittlerer Fehler ± 0.96%		

Völlig verschieden davon liegen die Verhältnisse bei der Bestimmung mit Natriumazetatzusatz. Man erhält hier zunächst hellbraune, später dunkler werdende Fällungen, die nach Zusatz von Natriumazetatlösung bei 80°C vollständig werden. Das Ergebnis (Tabelle 9) ergibt deutlich, daß 2 Mol Fisetin mit einem Kupferatom reagiert, so daß die Ausbildung eines 2:1-Komplexes angenommen werden darf. Die hierauf berechneten Werte stimmen mit den Einwaagen innerhalb der Fehlergrenze gut überein. Die Tatsache, daß hier nur ein 2:1-Komplex gebildet wird, zeigt, daß bei Fehlen der C_5-Hydroxylgruppe eine Ausbildung des Komplexes im Seitenphenyl nicht stattfindet.

Offenbar ist hier die Tendenz zur Ausbildung dieses Komplexes durch mangelnde Resonanzstabilität unmöglich gemacht. Interessant ist, daß sich auch durch einen starken Überschuß von Natriumazetat das Bindungsverhältnis von Metall zu Flavon nicht ändert.

T a b e l l e 9

Bestimmung	I	II
Einwaage in mg	21.90	20.80
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	5.02	5.15
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	3.99	3.77
Gebundenes Cu^{++} in mg	2.53	2.40
Mol Cu^{++} gebunden $= 10^{-5} \cdot x$	3.98	3.78
Gefundene Menge Flavon in mg, ber. für Flavon : Cu^{++} 1:1-Komplex	11.42	10.79
Berechnete Menge Flavon in mg, für Flavon : Cu^{++} 2:1-Komplex	22.84	21.58
Fehler ± %	+ 4.3	+ 3.8
Mittlerer Fehler ± 0.4%		

D. Quantitative-titrimetrische Bestimmung von Flavonen

Um zu prüfen, ob und inwieweit die beschriebenen Methoden auch zur quantitativen komplexometrischen Bestimmung von Flavonen in pharmazeutischen Präparaten geeignet sind, wurden einige Rutin haltige Arznei-Spezialitäten ausgewählt.

I. Bestimmung von Rutin in Birutan-Tabletten "Merck"

Jede Tablette enthält laut Deklaration 50 mg Rutin. Das Durchschnittsgewicht von 10 Tabletten beträgt 178.2 mg. Zur Vorbereitung der titrimetrischen Bestimmung wurden vier Tabletten in einer Reibschale zerrieben und in einen Glasfiltertiegel eine Menge eingewogen, die etwa 20 mg Rutin entsprach. Das Rutin wurde aus der Tablettenmasse mit Methanol herauseluiert und im Filtrat die Bestimmung nach Zugabe von festem Natriumazetat in üblicher Weise durchgeführt. Die Abscheidung und Abtrennung des Präcipitates geschah wie erwartet. Auch die Bestimmung des überschüssigen Kupfers konnte in üblicher Weise komplexometrisch durchgeführt werden. Wie aus der folgenden Tabelle 10 hervorgeht, wurde unter Zugrundelegung eines Rutin-Kupfer-1:1-Komplexes eine Menge gefunden, die umgerechnet auf eine Tablette 50.76 bzw. 51.54 mg Rutin ergab. Die Fehler sind dementsprechend gering, sie betragen 1.5 - 3.0%.

Gleichzeitig ist damit erwiesen, daß das zur Herstellung verwendete Rutin in seinem Reinheitsgrad dem von uns für die Modelltitration verwendeten Rutin entsprach. Die komplexometrische Methode kann somit sehr gut anstelle des spektrophotometrischen Verfahrens durchgeführt werden, da sie rasch und ohne apparativen Aufwand mit reproduzierbarem Ergebnis durchgeführt werden kann.

T a b e l l e 10

Bestimmung	I	II
Durchschnittsgewicht von 1 Tabl. in mg	178.20	178.20
= entsprechend Rutin in mg	50.00	50.00
Einwaage der pulv.Tablette in mg	71.20	71.20
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.41	7.41
Nicht gebundenes Cu^{++} in mg	5.47	5.44
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	3.05	3.09
Gebundenes Cu^{++} in mg	1.94	1.97
Mol Cu^{++} gebunden = 10^{-5}. x	3.05	3.10
Rutin-Gehalt in mg pro Tablette	50.76	51.54
Fehler ± %	+ 1.5	+ 3.1

Zur Kontrolle wurden dem methanolischen Tablettenauszug verschiedene Mengen Rutin zugesetzt und geprüft, ob diese zusammen mit dem ursprünglich vorgelegenen Rutin wiedergefunden werden. Wie aus der Tabelle 10a hervorgeht, werden die zugesetzten Mengen exakt wiedergefunden. Addiert man die in der Tablette vorliegende Rutinmenge mit der Menge Rutin, die nachträglich zugegeben wurde, so ergibt sich als theoretischer Wert 33 mg bzw. 28 mg Rutin. Gefunden wurden 32.3 mg bzw. 27.4 mg Rutin, was einem mittleren Fehler von 2% entspricht.

T a b e l l e 10a

Bestimmung	I	II
Einwaage der pulv.Tabl. in mg	71.20	71.20
= entsprechend mg Rutin	20.00	20.00
Zugesetzte Rutinmenge in mg	13.00	8.00
Gesamt Rutin in mg	33.00	28.00
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.41	7.41
Nicht gebundenes Cu^{++} in mg	4.33	4.79
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	4.84	4.12
Gebundenes Cu^{++} in mg	3.08	2.62
Mol Cu^{++} gebunden = 10^{-5}. x	4.85	4.12
Ergebnis in mg, Rutin:Cu^{++} 1:1	32.2	27.4
Fehler ± %	- 2.4	- 2.1

II. Bestimmung von Rutin in Rutinion Tabletten "Rhein-Chemie"

Laut Herstellerfirma enthält 1 Tablette 20 mg Rutin. Das Durchschnittsgewicht von 10 Tabletten beträgt 81.23 mg. Über andere noch in der Tablettenmasse vorhandenen Stoffe wird nichts angegeben.

Die Ausführung der Bestimmung geschah wie bei der ersten. Aus dem Glasfiltertiegel konnte das Rutin in klarer Lösung mit Methanol eluiert werden. Das Ergebnis der Untersuchung, das in Tabelle 11 niedergelegt ist, ergibt pro Tablette einen Rutingehalt zwischen 19.7 und 20.0 mg. Der mittlere Fehler beträgt etwa 1.5%. Auch hier zeigte sich, daß durch das Tablettenfüllmaterial bzw. andere in der Tablette vorhandenen Stoffe keine Störung eintritt.

T a b e l l e 11

Bestimmung	I	II
Einwaage der pulv.Tabl. in mg	81.23	81.23
= durchschnittl. Tablettengewicht in mg	81.23	81.23
= entsprechend Rutin in mg	20.00	20.00
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.41	7.41
Nicht gebundenes Cu^{++} in mg	5.49	5.52
Verbrauch 1/100 mol.Titriplex-III-Lösung	3.02	2.97
Gebundenes Cu^{++} in mg	1.92	1.89
Mol Cu^{++} gebunden = 10^{-5} x	1.02	2.97
Rutingehalt in mg pro Tablette	20.07	19.74
Fehler ± %	+ 0.4	- 1.3

III. Bestimmung von Rutin in Rutinion Ampullen von "Rhein-Chemie"

Jede Ampulle à 2 ml soll 100 mg Rutin enthalten. Die Bestimmung des Rutins in dieser Ampullenlösung war deshalb von besonderem Interesse, da hier mit dem Vorliegen eines Lösungsvermittlers zu rechnen war. Ob dieser die Ausfällung des Komplexes und damit die titrimetrische Bestimmung negativ beeinflußt, war zu untersuchen.

Die Durchführung der Bestimmung geschah in der Weise, daß jeweils der Inhalt von 2 Ampullen gemischt und in einem Meßkolben auf 50 ml aufgefüllt wurde. Jeweils 10 ml der Lösung, entsprechend einer Menge von 20 mg Rutin, wurden in bekannter Weise mit Kupfersulfatlösung und Natriumazetat umgesetzt. Der Kupfer-Rutin-Komplex, der sich in bekannter Weise bildete, konnte abfiltriert werden. Eine Störung durch den Lösungsvermittler war nicht erfolgt. Das Ergebnis der Titration ist in Tabelle 11a aufgeführt. Der mittlere Fehler liegt nicht höher als bei der Bestimmung des Rutins in Rutinion-Tabletten. Auch hier wurde eine Kontrollbestimmung durchgeführt und festes Rutin der Rutinion-Ampullenlösung hinzugefügt. (siehe Tabelle 11b).

T a b e l l e 11a

Bestimmung	I	II
Vorlage in ml 1/5 Ampulle	0.40	0.40
= entsprechend mg Rutin	20.00	20.00
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.41	7.41
Nicht gebundenes Cu^{++} in mg	5.51	5.52
Verbrauch 1/100 mol.Titriplex-III-Lösung	2.99	2.97
Gebundenes Cu^{++} in mg	1.90	1.89
Mol Cu^{++} gebunden = $10^{-5} \cdot x$	2.99	2.97
Rutingehalt in mg pro Ampulle	99.30	98.80
Fehler ± %	- 0.7	- 1.2

Tabelle 11b

Bestimmung	I	II
Vorlage in ml 1/5 Ampulle	0.40	0.40
= entsprechend Rutin in mg	20.00	20.00
Einwaage Rutin in mg	11.60	5.00
Gesamt-Rutin in mg	31.60	25.00
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.41	7.41
Nicht gebundenes Cu^{++} in mg	4.42	5.03
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	4.70	3.74
Gebundenes Cu^{++} in mg	2.99	2.38
Mol Cu^{++} gebunden = $10^{-5}.x$	4.70	3.74
Ergebnis in mg, Rutin : Cu^{++} 1:1	31.26	24.88
Fehler ± %	- 1.0	- 0.5

IV. Bestimmung von Quercetin und Rutin nebeneinander

Die Nebeneinander-Bestimmung von Quercetin und Rutin ist deshalb von Interesse, weil Rutin häufig mit Quercetin verunreinigt ist bzw. durch Spontanhydrolyse oder Einfluß von anderen Stoffen im Gemisch teilweise zum Quercetin abgebaut wird. In vielen pharmazeutischen Präparaten liegt deshalb Rutin neben Quercetin vor. Versuche, Rutin neben Quercetin zu bestimmen, wurden bereits von HÖRHAMMER und HÄNSEL[63] und von KNÜTTER und POHLOUDEK-FABINI[64] durchgeführt.

Für die komplexometrische Bestimmung von Rutin und Quercetin nebeneinander machten wir uns die Eigenschaft zu Nutze, daß Rutin ohne Zugabe von Natriumazetat keinen ausfällbaren Komplex bildet, während Quercetin unter diesen Bedingungen den Quercetin-Kupfer-2:1-Komplex bildet. Wir fällten zunächst diesen Quercetin-Kupfer-Komplex aus und bestimmten in der überstehenden Lösung komplexometrisch die Menge des nicht verbrauchten Kupfers. Anschließend hydrolysierten wir eine zweite Probe mit 5%iger Salzsäure 60 Min. im Wasserbad. Das sich beim Abkühlen abgeschiedene Quercetin wurde in einer Filter-

63) L.HÖRHAMMER u. R.HÄNSEL, Arch.Pharm.Ber.dtsch.pharm.Ges. 284/56, 276 (1951)
64) S.KNÜTTER u. R.POHLOUDEK-FABINI, Vitamine u.Hormone 8, 431 (1959)

nutsche gesammelt, die Ausfällung zuerst neutral gewaschen und dann das Quercetin durch Zugabe von heißem Methanol in ein Becherglas eluiert. Das Quercetin geht dabei quantitativ in Lösung. Die Lösung wird auf 10 ml eingedampft und dann die Menge Quercetin in üblicher Weise komplexometrisch bestimmt.

In Tabelle 12a ist das Titrationsergebnis für die vorliegende Menge freien Quercetins, in Tabelle 12b das Ergebnis der Titration der gesamten Menge Quercetin nach Hydrolyse aufgeführt.

Es enthalten demnach für 40 mg des Gemisches zwischen 20 und 21 mg freies Quercetin, was mit der Einwaage übereinstimmt. Bei der zweiten Bestimmung erhält man 9.16 bzw. 9.77 mg Quercetin, die umgerechnet 19.02 bzw. 20.27 mg Rutin entsprechen. Damit ist bewiesen, daß die Nebeneinanderbestimmung von Quercetin und Rutin möglich ist. Da in der Praxis das Quercetin-Rutin-Verhältnis zumeist nicht 1:1, sondern eher 1:3 bzw. 1:6 beträgt, wurde in verschiedenen Lösungen mit überschüssigem Rutin untersucht, ob dieses quantitativ bestimmbar ist. Um die Fehler niedrig zu halten, wurde eine entsprechend höhere Einwaage gewählt. Da bei einer so hohen Rutinmenge die Quercetinbestimmung dadurch gestört wird, daß durch die Eigenfarbe des Rutins der Umschlagspunkt nicht erkennbar ist, wurde bei diesen Untersuchungen das nicht gebundene Kupfer jodometrisch zurücktitriert. Die Ergebnisse über die Untersuchung der Substanz mit unterschiedlichem Quercetin-Rutin-Gehalt sind in den Tabellen 13a und 13b zusammengefaßt. Sie lassen erkennen, daß mit der angegebenen Methode eine titrimetrische Nebeneinanderbestimmung von Rutin und Quercetin möglich ist.

T a b e l l e 12a

Rutin- und Quercetin-Einwaage je 20 mg

Bestimmung	I	II
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.66	7.66
Nicht gebundenes Cu^{++} in mg	5.57	5.67
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	3.29	3.13
Gebundenes Cu^{++} in mg	2.09	1.99
Ergebnis Quercetin in mg	21.06	20.05
Fehler ± %	+ 5.0	+ 0.2

T a b e l l e 12b

Bestimmung nach 60minütiger Hydrolyse

Rutin- und Quercetin-Einwaage je 20 mg

Bestimmung	I	II
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.66	7.66
Nicht gebundenes Cu^{++} in mg	4.66	4.70
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	4.73	4.65
Gebundenes Cu^{++} in mg	3.00	2.96
Gefundenes Quercetin in mg	9.16	9.77
Umgerechnet auf Rutin in mg	19.02	20.27
Fehler ± %	- 5.0	+ 1.4

T a b e l l e 13a

Bestimmung	I	II
Einwaage Quercetin in mg	20.00	20.00
Einwaage Rutin in mg	60.00	60.00
Verbrauch Kupfersulfat in ml vor der Hydrolyse	3.30	3.30
Verbrauch Kupfersulfat in ml nach der Hydrolyse	3.86	3.86
Gefundene Menge Quercetin in mg	19.95	19.95
Gefundene Menge Gesamt-Quercetin	46.67	46.67
Gefundene Menge Quercetin aus Rutin	26.72	26.72
Gefundene Menge Rutin in mg	55.45	55.45

T a b e l l e 13b

Bestimmung	I	II
Einwaage Quercetin in mg	20.00	20.00
Einwaage Rutin in mg	120.00	120.00
Verbrauch Kupfersulfat in ml vor der Hydrolyse	3.20	3.20
Verbrauch Kupfersulfat in ml nach der Hydrolyse	3.02	3.12
Gefundene Menge Quercetin in mg	19.34	19.34
Gefundene Menge Gesamt-Quercetin	73.04	75.45
Gefundene Menge Quercetin aus Rutin	53.70	56.11
Gefundene Menge Rutin in mg	111.5	116.4

E. Versuche zur titrimetrischen Bestimmung von Tannin

Nachdem die Versuche mit Flavonen die grundsätzliche Anwendbarkeit der Schwarzenbach-Methode erwiesen hatten, sollte weiter geprüft werden, ob dieses Bestimmungsverfahren auch auf andere phenolische Verbindungen anwendbar ist.

Hierfür kam als Verbindung mit pharmazeutischer Bedeutung in erster Linie das Tannin in Frage, da dieses wegen seiner adstringierenden Eigenschaften therapeutisch verwendet wird. Nachdem es für die quantitative Bestimmung von Tannin eine Reihe von Methoden gibt, in denen gerade die Ausfällbarkeit mit Schwermetallen ausgenützt wird, war anzunehmen, daß auch eine komplexometrische Bestimmung möglich war.

Die Abscheidung von Tannin mit Hilfe von Schwermetallen oder Erdalkalien dient beispielsweise zur Reinigung gerbstoffhaltiger pflanzlicher Extrakte. Für eine quantitative Bestimmung wird die Ausfällung mit basischem Bleiazetat empfohlen[65], da die Bleiverbindung am leichtesten abzuscheiden ist und verhältnismäßig schwer wieder in Lösung geht. Auch die Erdalkalien, so z.B. Kaliumcarbonat und Kaliumazetat[66] wurden herangezogen, doch sind die Ausfällungen mit diesen Metallen nicht quantitativ. Andere Verfahren beruhen auf der Additionsfähigkeit des Tannins mit Hautpulver[67], Gelatine[68] und Polyamid[69].

Gewisse Anhaltspunkte dafür, daß eine komplexometrische Bestimmung denkbar ist, lassen die Arbeiten von LINDE und TEUFER[70], sowie GSTIRNER[71] erkennen. Nach den ersten Autoren wird das Tannin mit Zinnchlorür, nach Gstirner mit Kupferazetat zur Ausfällung gebracht,und anschließend der Komplex gewichtsanalytisch

---

65) G.KLEIN, Handbuch der Pflanzenanalyse Bd. III/1, Spezielle Analyse II, S. 349, Springer-Verlag Wien 1932
66) A.G.PERKIN, J.chem.Soc.(London) 75,433 (1899)
67) O.LINDE u. H.TEUFER, Pharmaz.Zentralhalle Deutschland 21, 53 (1929)
68) E.FISCHER u. M.BERGMANN, Ber. 52, 829 (1919) Dps. 395
69) H.BAZER, Makromolekul.Chem. 8, 183 (1953)
70) O.LINDE u.H.TEUFER, Pharmaz.Zentralhalle Deutschland 21, 53 (1929)
71) F.GSTIRNER u. A.BOPP, Arch.Pharmaz.Ber.dtsch.pharmaz.Ges. 289, 188, 233 (1956)

bestimmt. Beide Methoden haben sich gut bewährt. Trotzdem befriedigen sie nicht ganz, weil sie umständlich und auf Grund zahlreicher Fehlerquellen schwer reproduzierbar sind. Die Tatsache, daß man daher bis in die Neuzeit versucht hat[72], anstelle der bisherigen Verfahren brauchbarere Methoden zu finden, zeigt die Dringlichkeit, eine exakte und leicht durchzuführende Bestimmungsmethode zu finden.

Ebenfalls umständlich und mit großen Fehlerbreiten behaftet sind die bisher verwendeten Methoden, die gravimetrische Kupferazetatmethode und Hypojoditmethode nach HERRMANN und ENGE[73], die photometrischen Verfahren mit Phosphorwolframsäure-Reagens nach KRIEGER[74], LANG[75], NICK[76] und FRIEDRICH[77] und die kombinierten Hautpulver- und Agglutinationsmethoden von GSTIRNER und BOPP[78]. Während die Hautpulver- und Agglutinationsmethode den Vorgängen der Adstrinktion am nächsten kommen, stellen die anderen Verfahren reine Konventionsmethoden dar, die das chemische Verhalten des Tanningemisches gegenüber Komplexbildnern widerspiegeln.

Die Schwierigkeiten, die einer exakten Bestimmung entgegenstehen, liegen in erster Linie darin, daß das Tannin nur ein Sammelbegriff für viele Präparate wechselnder Zusammensetzung ist. So lag dem bis zum Jahre 1870 verwendeten Handelstannin vorwiegend das türkische Gallotannin zugrunde, gewonnen aus Zweiggallen von Quercus infectoria. Später herrschte im Handel das sogenannte "chinesische Tannin" vor, das von den Blattgallen einer Sumachart stammt. Beide Gerbstoffarten sind voneinander verschieden, aber auch für das chinesische Gallotannin zeigen

---

72) F.GSTIRNER u. G.GO GHO, Arch.Pharmaz.Ber.dtsch.pharm.Ges. 292/64, 621 (1959)
73) K.HERRMANN u. W.ENGE, Pharmazie 12, 162 (1957); Planta Medica 6, 98 (1958)
74) G.KRIEGER, Dtsch.Apotheker-Ztg. 92, 849 (1952)
75) W.LANG, Pharmazie 7, 138 (1951)
76) E.NICK, Pharmazie 8, 940 (1953); Pharm.Ind. 15, 382 (1953)
77) H.FRIEDRICH, Pharmazie 9, 240 (1954)
78) F.GSTIRNER u. A.BOPP, Arch.Pharmaz.Ber.dtsch.pharmaz.Ges. 289, 188, 233 (1956)

FISCHER[79], FREUDENBERG[80], KARRER[81][82] und neuere Arbeiten von WHITE[83] und GRASSMANN und Mitarbeiter[84] unterschiedliche Strukturauffassungen. Diese erstrecken sich von den polygalloy-lierten Glukosearten zu den durch WHITE[83] und GRASSMANN[84] postulierten polygalloylierten Polysaccharid-Strukturen.

Ähnlich liegen die Verhältnisse beim Sumachgerbstoff, dem nach den Arbeiten von MÜNZ[85] in der Hauptsache eine Pentagalloylglukose zugrunde liegt. Auch in den Lehrbüchern wird für das Tannin DAB. 6. unter dem Hinweis, daß zwar ein Gemisch vorliegt, die Formel der Pentadigalloyl-Glukose angegeben.

HAWORTH[86][87] konnte in seinen Arbeiten verschiedene Gallotannine papierchromatographisch und durch Gegenstromverteilung weiter trennen und zeigte, daß sie aus einer komplexen Mischung von Phenolsubstanzen bestehen, deren Hauptkomponente (Gallotannin) als ein weißes amorphes Pulver durch eine Anzahl von Reinigungsvorgängen erhalten werden konnte. Diese Produkte waren chromatographisch und polarimetrisch rein und - ausgenommen türkisches Gallotannin - nicht voneinander zu unterscheiden. Kohlenstoff- und Wasserstoff-Analysen und Glukose- und Gerbsäure-Bestimmungen deuteten auf das Vorhandensein von 8 - 9 Galloylgruppen für jedes Glukosemolekül. Aus weiteren Arbeiten[88] kann man schließen, daß der Kohlehydratkern des Tannins Glukose ist und nicht ein Polysaccharid, wie von WHITE[89] und GRASSMANN[90] zunächst angenommen wurde. Diese Behauptung wurde auch inzwischen zurückgezogen[91].

---

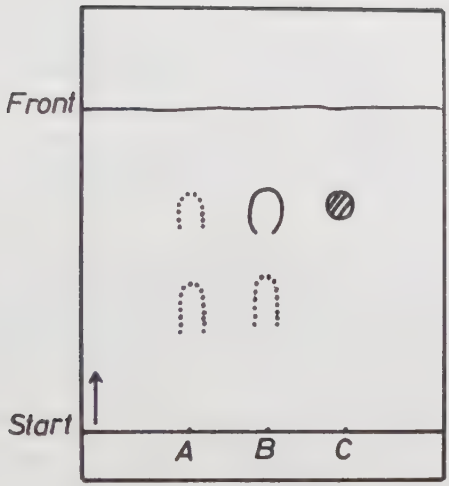
79) E.FISCHER, Ber. 52, 809 (1919)
80) K.FREUDENBERG, Die Chemie der natürlichen Gerbstoffe, Berlin, 38 (1933)
81) P.KARRER, H.R.SALOMON u. J. PEYER, Helv.Chim.Acta 6, 17 (1923)
82) P.KARRER, R.WICHNER u. M.STAUB, Liebigs Ann.Chem.433,288 (1923)
83) T.WHITE, The Chemistry of the Vegetable Tannins, Symposium, Society of Leather Trades'Chemists, 13 (Croydon 1956)
84) W.GRASSMANN, H.ENDRES u. G.STIEFENHOFER, Chem.Ber. 89, 454(1956)
85) W.MÜNZ, Collegium 714,(1929) 499
86) R.D.HAWORTH, Angew.Chem. 72, 326 (1960)
87) W.O.OLLIS, Recent developments in the Chemistry of natural phenolic Compounds, Pergamon Press 1961, S.134
88) R.D.HAWORTH, K.JONES u.H.J.ROGERS, Proc.Chem.Soc.1958, 8
89) T.WHITE, The Chemistry of the Vegetable Tannins, Symposium, Society of Leather Trades'Chemists, 13,(Croydon 1956) Chem.Abs. 1958, 2183
90) W.GRASSMANN, H.ENDRES u.G.STIEFENHOFER,Chem.Ber.1956,89, 454
91) T.WHITE u.H.G.C.KING,Chem.and Ind.1958,683;H.Endres,private communication at Plant Phenolics Group meeting,April 1960

Das Ergebnis einer Tanninbestimmung ist daher im wesentlichen von der Zusammensetzung des Tannin-Präparates abhängig, insbesondere davon, welches Molekulargewicht dem Präparat zuzuschreiben ist und welche einzelnen Bestandteile im Präparat nachweisbar sind. Während der erste Punkt schwer nachzuprüfen ist, kann die Zusammensetzung auf papierchromatographischem Wege ermittelt werden.

Wir haben zu diesem Zweck einzelne Präparate nach Angaben von KESSLER und BLUMENBERG[92] und HAWORTH[93] papierchromatographisch untersucht und dabei festgestellt, daß alle Präparate im wesentlichen aus einer Hauptkomponente bestehen und daneben noch wechselnde Mengen freier Gallussäure enthalten. Das quantitative Verhältnis der Hauptkomponente zur Verunreinigung liegt, wenn man die Farbintensität der Flecken vergleicht, bei etwa 5:1.

92) F.J.KESSLER u. F.W.BLUMENBERG, Arzneimittel-Forsch. 11, 286 (1961)

93) W.O.OLLIS, Recent developments in the Chemistry of natural phenolic Compounds, Pergamon Press 1961, S. 134



XXV

I A = Tannin "Merck" 0.005 ml } Lösung 25 mg in 1 ml Wasser/Aceton
II B = Tannin DAB 0.005 ml } (1:1)

C = Gallussäure Lösung 5 mg in 10 ml Wasser/Aceton (1:1)

Butanol:Eisessig:Wasser = 4:1:2

Papier: Schleicher u. Schüll Nr. 2043 M

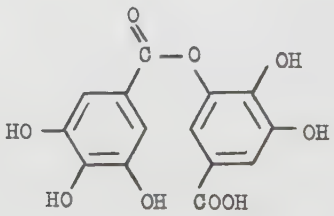
Laufzeit: 14 Stunden aufsteigend

Sprühmittel: Wässrige 0.5%ige Echtblausalz B Lösung frisch bereitet + 1 Tropfen n/10 NaOH

Man wird also immer dann, wenn das Verhältnis von Komponente 1 zu Komponente 2 bei zwei Präparaten verschieden ist, auch unterschiedliche Werte bei der quantitativen Bestimmung erwarten dürfen.

Da das Tannin in seiner Zusammensetzung heterogen ist und sich somit für die Diskussion von Ergebnissen gewisse Schwierigkeiten ergeben, haben wir zunächst an einem Baustein des Tannins, der m-Digallussäure, untersucht, ob und in welchem Maße Kupfer gebunden und inwieweit diese Bindung von Kupfer an m-Digallussäure für eine komplexometrische Bestimmung ausgenützt werden kann.

Wir verwendeten für die Untersuchung ein Präparat der Firma Carl Roth, Karlsruhe, das mit der Summenformel $C_{14}H_{10}O_9$ und dem Molekulargewicht von 322.2 angegeben wurde. Die Strukturformel für die m-Digallussäure ist in untenstehender Abbildung widergegeben.



XXVI

Theoretisch besteht auf Grund der Substitutionsverhältnisse im Molekül die Möglichkeit, daß je 2 orthoständige Hydroxylgruppen mit Kupfer reagieren, wobei nicht auszuschließen ist, daß auch zwischen der Carboxylgruppe des einen Gallussäurerestes und einer OH-Gruppe des zweiten Restes eine komplexartige Bindung des Kupfers stattfindet. Weiterhin ist in Erwägung zu ziehen, daß sich 2 oder 3 Moleküle m-Digallussäure mit Kupfer zu einer unlöslichen Verbindung vereinigen. Bei der Reaktion im schwach alkalischen Milieu ist auch an eine teilweise oder vollständige

Spaltung des Esters zu denken, so daß die Komplexbildung praktisch mit monomolekularer Gallussäure stattfindet.

Die Versuche wurden in der Weise durchgeführt, daß die m-Digallussäure in Wasser gelöst und einmal mit der 2fachen, zum anderen mit der 10fachen zur Bildung eines 1:1-Komplexes berechneten Menge versetzt wurde. Es entstand jeweils ein brauner Niederschlag, den man über Nacht absitzen ließ. Dann wurde mit Wasser auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt, und die Lösung gemischt. Es wird durch ein trockenes Filter filtriert, die ersten 40 ml des Filtrates verworfen, und in einem Äquivalent des Filtrates der Überschuß an Kupfer in üblicher Weise komplexometrisch bestimmt.

Um sicher zu sein, daß die Kupfer-Digallussäure-Verbindung durch Zugabe von Wasserüberschuß nicht wieder teilweise in Lösung geht, wurde eine Kontrollbestimmung in der Weise durchgeführt, daß die Kupferverbindung sofort abfiltriert, das Filtrat auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und dann darin wieder in üblicher Weise das Kupfer bestimmt wurde. Wie sich zeigte, waren die Unterschiede nicht wesentlich.

Die gleiche Versuchsanordnung wurde auch wie früher mit Natriumazetatzusatz durchgeführt. Außerdem wurde die Menge Kupfersulfatlösung zwischen einem geringen (2fachen) und größeren (10fachen) Überschuß variiert.

Arbeitet man mit einem 10fachen Überschuß an Kupfer-Ionen ohne Natriumazetatzusatz, so erhält man, wie Tabelle 14b zeigt, Werte, die zwar nicht ganz mit den für eine 1:1-Verbindung berechneten Werten übereinstimmen, aber doch erkennen lassen, daß auf 1 Mol m-Digallussäure 1 Mol Kupfer trifft.

T a b e l l e 14a

Titrimetrische Bestimmung von m-Digallussäure "Roth"
Einwaage: 20 mg(6.2×10^{-3} mol.Lösung).
Das Cu^{++} liegt in 1.2×10^{-2} mol.Lösung vor und wird zum Analysengemisch in 2facher Menge (berechnet auf einen stöchiometrischen 1:1-Komplex) zugesetzt.

Bestimmung	I	II
Verbrauch 0.001 mol. ÄDTE zur Rücktitration in ml	6.95	6.70
Cu^{++} gebunden in mg	4.42	4.26
m-Digallussäure gefunden, berechnet auf 1 Mol Cu^{++}: 1 Mol m-Digallussäure	22.40	21.60
Fehler $\pm$ %	+ 11.0	+ 8.0

T a b e l l e 14b

Titrimetrische Bestimmung von m-Digallussäure "Roth"
Einwaage: 20 mg(6.2×10^{-3} mol.wässrig.Lösung).
Das Cu^{++} liegt in 1.2×10^{-2} mol.Lösung vor und wird zum Analysengemisch in 10facher Menge (berechnet auf einen stöchiometrischen 1:1-Komplex) zugesetzt.

Bestimmung	I	II
Verbrauch 0.001 mol. Titriplex-III-Lösung in ml	5.90	6.40
Cu^{++} gebunden in mg	3.75	4.07
m-Digallussäure gefunden, berechnet auf 1 Mol Kupfer: 1 Mol m-Digallussäure	19.02	20.62
Fehler $\pm$ %	- 5.0	+ 3.1

Der zweite Versuch lehrt, daß es offenbar zur Gleichgewichtseinstellung eines beträchtlichen Überschusses an Kupfer bedarf.

Interessant ist weiterhin das Ergebnis der komplexometrischen Bestimmung mit einem Überschuß an Kupfer-Ionen bei Gegenwart von Natriumazetat. Legt man auch hier der Berechnung ein molares Verhältnis von 1:1 zugrunde, so erhält man um 75% zu hohe Werte. Sehr gut übereinstimmen würden die Werte, wenn man ein Verhältnis von 3 1/2 Mol Cu^{++} : 2 Mol m-Digallussäure annähme (siehe Tabelle 15a).

Auch bei der Bestimmung mit nur mäßigem Überschuß an Kupfer (Tabelle 15a) liegen die Werte bei Zugrundelegung eines Mol-Verhältnisses von 1:1 zu hoch. Annähernd theoretische Werte ergeben sich, wenn man von einem Verhältnis 2 1/2 Mol Cu^{++} : 1 Mol m-Digallussäure ausgeht (siehe Tabelle 15b).

Bei großem Überschuß an Kupfersulfatlösung (6×10^{-4} Mol) und gleichzeitiger Gegenwart von Natriumazetat erhält man Übereinstimmung mit den theoretischen Werten, wenn von einem 3 1/2 Mol Cu^{++} : 2 Mol m-Digallussäure-Verhältnis ausgegangen wird (siehe Tabelle 15c).

T a b e l l e 15a

Titrimetrische Bestimmung von m-Digallussäure "Roth" mit Natriumazetat.
Einwaage: 20 mg(6.2×10^{-3} mol.wässriger Lösung).
Das Cu^{++} liegt in 1.2×10^{-2} mol.Lösung vor und wird zum Analysengemisch in 2facher Menge (berechnet auf einen stöchiometrischen 1:1-Komplex) zugesetzt.

Bestimmung	I	II
Verbrauch 0.001 mol. Titriplex-III-Lösung in ml	10.95	11.05
Cu^{++} gebunden in mg	6.96	7.03
m-Digallussäure gefunden, berechnet auf		
a) 1 Mol Cu^{++} : 1 Mol m-Digallussäure	35.28	35.63
b) 1 3/4 Mol Cu^{++} : 1 Mol m-Digallussäure bzw. 3 1/2 Mol Cu^{++} : 2 Mol m-Digallussäure	20.16	20.36
Fehler ± %	+ 0.8	+ 1.8

T a b e l l e 15b

Titrimetrische Bestimmung von m-Digallussäure "Roth" mit Natriumazetat.
Einwaage: 20 mg (6.2 x 10^{-3} mol. wässrige Lösung).
Das Cu^{++} liegt in 1.2 x 10^{-2} mol. Lösung vor und wird zum Analysengemisch in 4facher Menge (berechnet auf einen stöchiometrischen 1:1-Komplex) zugesetzt.

Bestimmung	I	II
Verbrauch 0.001 mol. Titriplex-III-Lösung in ml	14.90	15.10
Cu^{++} gebunden in mg	9.47	9.60
m-Digallussäure gefunden, berechnet auf		
a) 1 Mol Cu^{++} : 1 Mol m-Digallussäure	48.00	48.65
b) 2 1/2 Mol Cu^{++} : 1 Mol m-Digallussäure	19.20	19.48
Fehler ± %	- 4.0	- 2.5

T a b e l l e 15c

Titrimetrische Bestimmung von m-Digallussäure "Roth" mit Natriumazetat.
Einwaage: 20 mg (6.2 x 10^{-3} mol. wässrige Lösung).
Das Cu^{++} liegt in 1.2 x 10^{-2} mol. Lösung vor und wird zum Analysengemisch in 10facher Menge (berechnet auf einen stöchiometrischen 1:1-Komplex) zugesetzt.

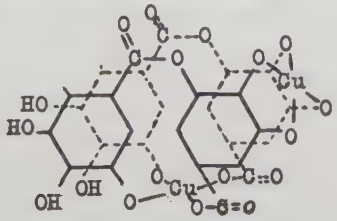
Bestimmung	I	II
Verbrauch 0.001 mol. Titriplex-III-Lösung in ml	23.45	23.65
Cu^{++} gebunden in mg	14.91	15.03
m-Digallussäure gefunden, berechnet auf		
a) 1 Mol Cu^{++} : 1 Mol m-Digallussäure	75.57	76.18
b) 3 1/2 Mol Cu^{++} : 1 Mol m-Digallussäure	21.59	21.77
Fehler ± %	+ 8.0	+ 8.9

Stellt man die Ergebnisse einander gegenüber, so kommt man zu einer Übersicht (siehe Tabelle 16), die zu folgenden Schlußfolgerungen führt.

T a b e l l e 16

zugegebene Cu^{++}-Menge in mg	Natrium-azetat	Mol-Verhältnis von Cu^{++} : m-Digallussäure
7.66	-	1 : 1
38.30	-	1 : 1
7.66	+	3 1/2 : 2
15.32	+	2 1/2 : 1
		(5 : 2)
38.30	+	3 1/2 : 1
		(7 : 2)

Bei der Titration ohne Natriumazetatzusatz besteht wohl kein Zweifel, daß hier eine Addition im Mol-Verhältnis 1:1 entstanden ist. Daß man mit überschüssiger Kupfersulfatlösung die Werte verbessern kann, ist ein Beweis für diese Hypothese. Die formelmäßige Darstellung dieses 1:1-Komplexes läßt nur eine Möglichkeit offen. Ausbildung von insgesamt 4 Chelatringen zwischen den ortho-ständigen Hydroxylgruppen und den Carboxylgruppen zweier Moleküle m-Digallussäure (siehe Formelschema). Daß auch die Carboxylgruppe in die Chelatbildung mit einbezogen ist, ist ziemlich sicher, da eine freie Säure so stark hydratisierend wirken würde, daß eine Ausfällung nicht mehr zu erwarten wäre. Ähnliche Überlegungen benutzten ALBERT und McGRATH[94] zur Deutung der Komplexsalze von Oxinen.



94) A.ALBERT u. D.McGRATH, Biochem.J. 41, 534 (1947)

Wesentlich schwieriger liegen die Verhältnisse bei den Titrationen mit Natriumazetatzusatz. Obwohl man auch hier durch Kombination verschiedener Mol-Verhältnisse auf Werte kommen kann, die den theoretischen Zahlen gleich oder nahe kommen, bereitet die Formulierung der Bindungsverhältnisse erhebliche Schwierigkeiten. Sicherlich besitzen auch diese Komplexe die Grundzüge des obigen Formelschemas. Berücksichtigt man, daß durch die Inanspruchnahme der dritten phenolischen OH-Gruppe die restlichen 2 OH-Gruppen ebenfalls noch an Chelierungsreaktionen teilnehmen können und nimmt man weiter an, daß auch die Estersauerstoffe koordinative Bindungen eingehen, so ließen sich Komplexe der Mol-Verhältnisse 5:2 oder 7:2 konstruieren.

F. Komplexometrische Bestimmung des Tannins

Nachdem die Versuche mit m-Digallussäure die grundsätzliche Brauchbarkeit der Methode erwiesen hatten, führten wir in analoger Weise die Umsetzung und Rücktitration an verschiedenen Tanninpräparaten durch.

Wir verwendeten zunächst das Tannin-Präparat Merck, gingen von 20 mg Substanz aus und führten zunächst die Fällung ohne Natriumazetat mit geringem Kupferüberschuß, dann mit großem Überschuß und schließlich mit Natrium-Azetat und verschiedenen Mengen Kupfer in der Kälte bzw. in der Siedehitze durch.

Bei der Ausfällung des Tannins ohne Natriumazetatzusatz erhält man je nach Kupfermenge die gleichen Resultate wie bei der m-Digallussäure, d.h. auch hier konnten die mittleren Fehler durch Verwendung eines Überschusses an Kupfer-Ionen herabgesetzt werden. In beiden Fällen erhält man rechnerisch die eingesetzte Tanninmenge, wenn man annimmt, daß 1 Mol Tannin etwa 6 1/4 Mol Kupfer bindet. Diese Werte sind nicht weiter verwunderlich, wenn man die Heterogenität des Tannins berücksichtigt und die durch Zufuhr von Komplexbildnern mögliche Molekülvergrößerung in Rechnung stellt.

T a b e l l e 17

Komplexometrische Tanninbestimmung.
Einwaage: 20 mg(1.18×10^{-5} mol.wässriger Lösung).
Das Cu^{++} liegt in 1.2×10^{-2} mol. Lösung vor und wird zum Analysengemisch a) in 10^3facher b) in 3×10^3facher Menge (berechnet auf einen stöchiometrischen 1:1-Komplex) zugesetzt.

Bestimmung	I (a)	II	I (b)	II
Verbrauch n/100 ÄDTE	7.60	7.42	7.29	7.54
Cu^{++} gebunden in mg	4.83	4.72	4.63	4.79
Tannin gef. für 1:1 ber.	129.20	126.30	123.90	128.20
für 6 1/4:1 ber.	19.81	20.51	20.68	20.21
Abweichung in %	+3.4	+ 1.1	- 1.0	+ 2.5

Bei Gegenwart von Natriumazetat wird erwartungsgemäß mehr Kupfer gebunden. Nimmt man einen geringen Kupferüberschuß, so sprechen die Titrationsergebnisse für ein Kupfer-Tanninverhältnis von 12 1/2 : 1 bzw. 25:2. Während die mittleren Abweichungen bei Kaltfällung zwischen 4.4 - 1.9% liegen, sinken diese bei Fällung in der Hitze auf äußerst niedrige Werte. Arbeitet man mit großem Cu^{++}-Überschuß, so liegen die Mol-Verhältnisse bei Kaltfällung ebenfalls bei 12 1/2 : 1. Die durch Fällung in der Siedehitze erhaltenen Ergebnisse sind dagegen am besten mit einem 15:1-Komplex kongruent. Dieses Verhältnis wird der Zusammensetzung des Tannins unter Berücksichtigung der bei der m-Digallussäure diskutierten strukturellen Besonderheiten sehr wohl gerecht.

T a b e l l e 18a

Komplexometrische Tanninbestimmung mit Natriumazetat
Einwaage: 20 mg(1.18×10^{-5} mol.Lösung).
Das Cu^{++} liegt in 1.2×10^{-2} mol.Lösung vor und wird zum Analysengemisch in 10^3facher Menge (berechnet auf einen stöchiometrischen 1:1-Komplex) zugesetzt.
a) Fällung kalt b) Fällung heiß

Bestimmung	I (a)	II	I (b)	II
Verbrauch n/100 ÄDTE	14.05	14.42	14.90	14.65
Cu^{++} gebunden	8.93	9.17	9.47	9.31
Tannin ber.auf 1:1	239.0	245.40	253.40	249.20
Tannin ber. auf 12 1/2 : 1 bzw. 25 : 2	19.12	19.63	20.27	19.93
Abweichung in %	- 4.4	- 1.9	+ 1.4	- 0.4

T a b e l l e 18b

Komplexometrische Tanninbestimmung mit Natriumazetat
Einwaage: 20 mg (1.18 x 10^{-5} Mol.Lösung).
Das Cu^{++} liegt in 1.2 x 10^{-2} mol.Lösung vor und wird zum Analysengemisch in $3x10^{3}$facher Menge (berechnet auf einen stöchiometrischen 1:1-Komplex) zugesetzt.
a) Fällung kalt b) Fällung heiß

Bestimmung	I (a)	II	I (b)	II
Verbrauch n/100 ÄDTE	14.33	14.33	17.00	18.15
Cu^{++} gebunden	9.11	9.11	10.80	11.54
Tannin ber. auf 1:1	243.80	243.80	289.00	308.70
Tannin ber. auf 12 1/2 : 1 bzw. 25 : 2	19.51	19.51	19.27	20.59
Abweichung in %	- 2.5	- 2.5	- 3.6	+ 3.0

Hieraus ergibt sich, daß das Tannin bei genügend hohem Kupferüberschuß in der Hitze quantitativ ausfällbar ist, so daß der Überschuß an Kupfer ohne Schwierigkeiten komplexometrisch erfaßt werden kann. Bei einem Überschuß an Kupfer wird gleichzeitig die Fehlergrenze herabgedrückt. Da die genaue Zusammensetzung des Tannins aus den oben genannten Gründen nicht genau angegeben werden kann, sind damit auch die errechneten Mol-Verhältnisse rein hypothetisch. Sind dem Gerbstoff noch andere komplexbildende Verbindungen beigemischt oder besitzt das Präparat einen anderen Polymerisationsgrad, als das Standardpräparat, so verändert sich automatisch der Kupferverbrauch nach höheren oder niedrigeren Werten.

Während GSTIRNER Verfahren dieser Art auch zur Gerbstoffgehaltsbestimmung in Drogen heranzieht, dürfte nach unserer Ansicht hierfür in erster Linie die Hautpulver- und Agglutienationsmethode in Frage kommen. Die chemischen Wertbestimmungsmethoden können dagegen bevorzugt zur Begutachtung von Arzneibuch-Tanninpräparaten verwendet werden, da bei diesen andere Verbindungen außer Gallussäurederivate als Verunreinigungen kaum zur Diskussion stehen und somit aus der Höhe des ermittelten Wertes leicht die Güte des Präparates abgelesen werden kann.

Da auch die freie Gallussäure mit Kupfer Ausfällungen ergibt, diese aber über keine Gerbwirkung verfügt, ist ein e r h ö h t e r Kupferverbrauch gleichbedeutend mit einem Präparat minderer Güte. Unterschiede können auch dadurch bedingt sein, daß der Anteil an Pentagalloylglucose zugunsten einiger Komponenten mit mehr Galloylresten reduziert ist. Auch in diesem Falle ist der Kupferverbrauch erhöht, aber parallel damit geht eine Verbesserung der Gerbwirkung. Man wird somit zunächst chromatographisch zu prüfen haben, ob freie Gallussäure oder gegebenenfalls auch andere phenolische Verbindungen wie Flavone, Kaffeesäure vorliegen, um die Titrationsergebnisse richtig diskutieren zu können. Da die gravimetrische Kupferazetatmethode erheblich Zeit beansprucht, kann in Zukunft an ihre Stelle die komplexometrische Schnellbestimmung treten.

Wir haben im folgenden zu Vergleichszwecken zwei Gerbstoffpräparate etwas unterschiedlicher Zusammensetzung (siehe Chromatogrammbild (S.43) nach der Hautpulvermethode (I), der gravimetrischen Kupferazetatmethode (II) und nach der komplexometrischen Methode (III) bestimmt.

T a b e l l e 19

Tanninbestimmung nach der Hautpulvermethode (I)
Einwaage: 400 mg Tannin, Menge Hautpulver 7.0 g

Präparat	I	II	Blindversuch III
Nichtgerbstoffe	65.3	71.1	54.8
Wasserlösl. Anteil	374.9	376.2	-
Gerbstoffgehalt in %	91.05	89.82	-
berechnet auf Trockensubst.	96.80	94.90	-

T a b e l l e 20

Gravimetrische Tanninbestimmung nach der Kupferazetatmethode (II)
Einwaage: 50 mg Tannin

Präparat	I	II
Kupfertanninkomplex	69.0	69.5
Kupferoxyd	23.1	24.7
% Tannin	91.8	89.6
berechnet auf Trockensubstanz	97.6	94.6

T a b e l l e 21

Komplexometrische Tanninbestimmung (III)
Einwaage: 20 mg Tannin
Kupfer-Konzentration 6.0×10^{-4} mol.

Präparat	I	II
Verbrauch n/100 ÄDTE	6.90	6.77
Cu^{++} gebunden in mg	4.38	4.30
Tannin, ber. für 12 1/2 : 1	19.99	19.33
% Tannin	93.91	92.14
berechnet auf Trockensubstanz	99.84	97.30

Vergleicht man die einzelnen Ergebnisse untereinander, so findet man nach der komplexometrischen Bestimmung die höchsten Tanninwerte. Die Werte der Hautpulvermethode und der gravimetrischen Kupferazetatmethode liegen ziemlich übereinstimmend etwas tiefer. Interessant ist, daß das Präparat I nach allen Bestimmungen etwas höhere %-Gehalte ergibt, als das Präparat II. Die prozentualen Unterschiede entsprechen einander (siehe Tabelle 22).

Tabelle 22

Präparat	I	II	Unterschied
Hautpulvermethode	96.8%	94.9%	1.96%
gravimetrische Kupferazetatmethode	97.6%	94.6%	3.07%
komplexometrische Bestimmung	99.8%	97.3%	2.5%

Vergleicht man die Chromatogrammbilder von Tanninpräparat I und II, so entspricht der hohe Wert dem niedrigeren Gallussäuregehalt, die niedrige Prozentzahl dagegen einer größeren Gallussäureverunreinigung.

Daß man nach der komplexometrischen Bestimmung die höchsten Werte erhält, besagt nichts weiter, da diese durch Umrechnung aus einem angenommenen Molekular-Gewicht erhalten wurden. Aufschlußreich sind dagegen die übereinstimmenden Unterschiede bei allen durchgeführten Methoden für die Präparate I und II. Da diese in allen Fällen prozentual ziemlich gleich sind, kann daraus abgeleitet werden, daß sich bei "reinen" Tanninpräparaten chemische Methoden und solche, denen das Eiweißadsorptionsvermögen zugrunde liegt, entsprechen.

In Praxis ist es bei den chemischen Gehaltsbestimmungen allerdings nicht sinnvoll, den %-Gehalt an Gerbstoff anzugeben. Da einmal wegen der ungewissen Zusammensetzung des Tannins das Molekulargewicht wechselt, zum anderen durch den %-Gehalt nicht unmittelbar die Bindungskraft des Tannins zum Ausdruck kommt, ist es besser, für eine Wertbestimmung die Bindungsfähigkeit des Tannins gegenüber Kupfer in Form eines Faktors anzugeben. Dies kann dadurch geschehen, daß man eine dem gebundenen Kupfersulfat entsprechende Menge Titriplex-III-Lösung in ml angibt. Danach würden die Werte 6.62 bis 7.35 ein Präparat von großer Güte ausdrücken, während Zahlen außerhalb dieses Bereiches besagen, daß das Tanninpräparat niedermolekulare Verunreinigungen enthält.

Wird der Wert 7.35 überschritten, müssen andere Verbindungen mit hohen Komplexbildungseigenschaften oder niedrigem Molekulargewicht vorliegen, was chromatographisch leicht festzustellen ist. Setzt man den höchsten erreichbaren Wert als 7.35 = 100%, so kann man dann hieraus die prozentuale Abweichung nach oben oder unten angeben und damit die Güte des Tanninpräparates kennzeichnen.

Beispiel: Verbrauch Titriplex-III-Lösung zur Rücktitration

Tannin I	16.42 ml
Tannin II	16.55 ml

Werden obige Versuchsbedingungen, Einwaage von 20 mg Substanz und Zusatz von 20 ml Kupfersulfatlösung, eingehalten, und beträgt die zur Rücktitration erforderliche Menge Titriplexlösung nicht mehr als 16.6 ml und nicht weniger als 16.4 ml, so liegt ein dem in seiner Zusammensetzung dem Tannin rein "Merck" gleichwertiges Produkt vor.

E X P E R I M E N T E L L E R T E I L

I. Bestimmung des zeitlichen Ablaufs der Komplexbildung zwischen Morin und Kupfer

Für die spektrophotometrischen Messungen wurden 2 Lösungen hergestellt.

1.) Eine 6.36 x 10^{-5} mol.wässrige Kupfer-(II)sulfatlösung, indem wir 25 mg Kupfersulfat ($CuSO_4$ x 5 H_2O) Merck in 1000 ml Wasser lösten.

2.) Eine 8.95 x 10^{-5} mol.Morinlösung, indem wir 3.38 mg Morin ($C_{15}H_{10}O_7$ x 2 H_2O) in 100 ml Äthanol lösten.

In einem 20 ml Meßkolben, der zur Vermeidung einer Abscheidung des in Wasser unlöslichen Morins 8 ml Äthanol enthielt, wurden nach und nach 1, 2, 3 - 9 ml der 10^{-4} Mol Kupfer-(II)-sulfatlösung mit 9, 8, 7 - 1 ml 10^{-4} Mol Morinlösung gemischt und mit Äthanol zur Marke aufgefüllt. Die Intensität der entstandenen Verfärbung wurde sofort, nach 30 Min., und schließlich nach 16 Stunden bei einer Wellenlänge von 420 mμ gemessen. Es wurden Job-Kurven aufgestellt, aus denen zu ersehen war, daß sich erst nach Ablauf mehrerer Stunden ein definierter Kupfer-Morin-Komplex im Verhältnis 2:1 ausbildete.

II. Bestimmung der Stabilitätskonstante des Quercetin-Kupfer-Komplexes 2:1

1. Quercetinlösung Q

60.5 mg Quercetin wurden im Meßkolben in 100 ml Äthanol (für die UV-Spektroskopie) gelöst und diese Lösung wiederum verdünnt, indem wir davon im 50 ml Meßkolben 10 ml mit Äthanol zur Marke auffüllten. Die so erhaltene Konzentration ist 0.0004 molar.

2. Kupfersulfatlösung K

25 mg $CuSO_4$ x 5 H_2O wurden im Meßkolben in 100 ml Äthanol gelöst und davon wiederum 10 ml auf 50 ml mit Äthanol verdünnt, so daß eine 0.0002 molare Kupfersulfatlösung vorlag.

In Anwendung des Beer'schen Gesetzes haben wir 2 Lösungen hergestellt, in denen bei gleichbleibender Quercetinmenge einmal ein auf den 2:1-Komplex berechneter 5facher Überschuß Kupfer angewandt wurde, zum anderen enthielt eine Lösung die zum 2:1-Komplex stöchiometrisch notwendige Menge Kupfer. Die Extinktionsmessungen wurden im Eppendorf Stufenphotometer bei einer Wellenlänge von λ = 436 mμ durchgeführt.

Herstellung der Lösungen:

1. Zur Extinktionsmessung bei vollständiger Komplexbildung wurde ein 5facher Überschuß an Kupfer gewählt. Dafür wurden 0.2 ml der Quercetinlösung Q mit 1 ml der Kupfersulfatlösung K auf 10 ml mit Äthanol im Meßkolben aufgefüllt. Die Extinktion betrug E = 0.116.

2. Zur Extinktionsmessung bei stöchiometrischem Verhältnis wurden 0.2 ml der Quercetinlösung Q mit 0.2 ml der Kupfersulfatlösung K im Meßkolben mit Äthanol auf 10 ml verdünnt. Die Extinktion wurde mit E = 0.079 gemessen.

Die Berechnung der Stabilitätskonstante ist im allgemeinen Teil Seite 10 ausgeführt.

III. Titrimetrische Bestimmung von Quercetin durch Ausfällen des Blei-Komplexes

Reagenzien:

Bleiazetatlösung 1/100 mol.

3.794 g Pb $(CH_3COO)_2$ x 3 H_2O pro analysi "Merck" werden zu 1000 ml in 1 molarer Essigsäure gelöst.
Herstellung der 1 mol. CH_3COOH Lösung: 63 g Essigsäure (96%) werden mit ausgekochtem Wasser zu 1000 ml verdünnt.

Zinksulfatlösung 1/100 mol.
20 ml 1/10 mol. Zinksulfatlösung "Merck" werden mit Wasser zu 200 ml verdünnt.

Titriplex-III-Lösung 1/100 mol.
20 ml 1/10 mol. Titriplex-III-Lösung werden mit Wasser zu 200 ml verdünnt.

Kaliumnatriumtartrat etwa 1 mol.
28 g $KNaC_4H_4O_6 \times 4\ H_2O$ pro analysi "Merck" werden zu 100 ml in Wasser gelöst.

Methanol p.a.

Ammoniaklösung etwa 25%

Natriumazetat $NaCH_3COO \times 3\ H_2O$ pro analysi "Merck"

Indikator-Puffertabletten "Merck"

Indikatorpapier "Merck"

Ausführung:

a) Einstellen der Bleiazetatlösung 1/100 mol.
10 ml der 1/100 mol. Bleiazetatlösung werden mit 20 ml Wasser, 10 ml 1 mol. K-Na-Tetratlösung, 20 ml 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung, 1 Indikator-Puffertablette, sowie mit etwa 2 ml Ammoniaklösung versetzt. Der pH liegt zwischen 10 - 10.5. Nun wird sofort mit 1/100 mol. Zinksulfatlösung der Überschuß an Titriplex-III-Lösung bis zum Farbumschlag von grün nach rot zurücktitriert. Man kann den Überschuß an Bleiazetatlösung auch direkt mit 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung, jedoch dann bei 40° und bis zum Farbumschlag von rot nach grün titrieren. Der Umschlag ist hier nicht so scharf, so daß in der Nähe des Äquivalenzpunktes s e h r langsam titriert werden muß.

b) Einstellen der 1/100 mol. Tritriplex-III-Lösung.
Dazu werden etwa 10 mg Zinkazetat pro analysi "Merck" genau gewogen und die Lösung mit Tritriplex-III-Lösung 1/100 mol. titriert.

c) Bestimmung von Quercetin.

Etwa 20 mg Quercetin werden genau gewogen und auf dem Wasserbad in 20 ml Methanol gelöst, hierauf mit 150 ml Wasser versetzt, in welchem man vorher 10 g Natriumazetat gelöst hat. Nun läßt man unter kräftigem Rühren (Rührwerk) aus einer Pipette 5 ml 1/100 mol. Bleiazetatlösung in die noch warme Lösung zufließen. Anschließend rührt man noch etwa 45 Min. und läßt dann über Nacht erkalten.

Die Lösung wird dann in einen 250 ml Meßkolben übergeführt, wobei das Becherglas mit etwas Wasser nachgespült wird. Man füllt zur Marke auf und filtriert nach gutem Durchmischen durch ein trockenes Faltenfilter in einen trockenen Erlenmeyer, wobei man die ersten 40 ml Filtrat verwirft.

100 ml des völlig farblosen Filtrates werden mit 10 ml einer 1 mol. K-Na-Tartratlösung versetzt, sowie mit 10 ml 1/100 mol. Tritriplex-III-Lösung. Nach Zugabe einer Indikator-Puffertablette und 1 ml Ammoniaklösung (bis pH 10.5) wird der Überschuß an Titriplex-Lösung mit 1/100 mol. Zinksulfatlösung zurücktitriert.

Der Umschlag ist hierbei sehr scharf von grün nach rot.

Der Berechnung wird die Bildung des Blei-Quercetin-Komplexes im Verhältnis 1:1 zugrunde gelegt.

T a b e l l e 23

Protokollauszug: Bestimmung von Quercetin durch Ausfällen des Bleikomplexes

Bestimmung	I	II	III	IV	V
Einwaage in mg	12.80	20.10	24.50	20.00	17.70
Verbrauch ml 1/100 mol. Bleiazetatlösung	1.52	2.38	2.91	2.38	2.10
Ergebnis in mg Quercetin	12.87	20.08	24.56	20.08	17.74
Fehler in %	+ 0.5	- 0.1	+ 0.2	+ 0.4	+ 0.2

Reagenzien
zur
Bestimmung der relativen Stabilität einiger Flavon-Kupfer-Komplexe
und zur
quantitativen titrimetrischen Bestimmung von Flavonen bzw. Flavonolen
durch Ausfällen der Kupferkomplexe

1.) Kupfersulfatlösung 1/100 mol.

3.0 g $CuSO_4$ x 5 H_2O werden mit dest. Wasser zu 1 l gelöst.

Einstellen der Kupfersulfatlösung:
10 ml der Kupfersulfatlösung werden mit so viel verdünnter Ammoniaklösung versetzt, bis sich das entstandene Kupferhydroxyd gerade wieder auflöst. Dann wird mit der Ammoniumchloridlösung auf pH 7.5 - 8.0 eingestellt. Nach Zugabe von 2 Tropfen Murexidlösung und Verdünnen auf 100 ml wird sofort mit 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung bis zum Farbumschlag von orangegelb nach kräftig-violett mit der Feinbürette titriert.

2.) Titriplex-III-Lösung 1/100 mol.

20 ml der 1/10 mol. Titriplex-III-Lösung "Merck" werden im Meßkolben mit dest. Wasser zu 200 ml verdünnt.
Natriumazetat $CH_3 \cdot COONa + 3\ H_2O$
Methanol pur.

3.) Murexid-Lösung

0.1 g Murexid "Riedel de Haen" werden in 5 ml Wasser aufgeschlämmt.

4.) Ammoniumchlorid-Lösung 1 + 3

5.) Ammoniak-Lösung verd. 1 + 5

6.) Universal-Indikator Papier "Merck"

7.) Chromatographie-Papier der Fa. Schleicher u.Schüll Nr. 2043 b Gl

8.) Lösungsmittelgem. zur Chromatographie: 10 Teile Äthylazetat
2 Teile Ameisensäure
3 Teile Wasser

IV. Bestimmung der relativen Stabilität einiger Flavon-Kupfer-Komplexe

Apigenin-7-Glykosid

Je 20 mg Apigenin-7-glykosid werden auf dem Wasserbad in 10 ml Methanol gelöst und mit steigenden Mengen (5; 10; bis 25 ml) einer 0.93 x 10^{-2} mol. wässrigen Natriumazetatlösung versetzt. Die Herstellung der Natriumazetatlösung erfolgte in der Weise, daß 125.9 mg CH_3 COO Na x 3 H_2O in 100 ml Wasser gelöst wurden.

Man ergänzt jeweils mit Wasser von 50°C auf 150 ml und fällt den Komplex mit 10 ml der eingestellten Kupfersulfatlösung aus. Dabei scheidet sich der Komplex allmählich, vollständig erst nach dem Erkalten, ab.

Nach 24stündigem Stehen wird die Fällung in einen 100 ml-Meßkolben übergeführt, zur Marke aufgefüllt, durch ein trockenes Faltenfilter in einen trockenen Erlenmeyer filtriert, die ersten 40 ml des Filtrates verworfen und 50 ml des Nachlaufes mit so viel Ammoniaklösung versetzt, daß sich das entstandene Hydroxyd gerade wieder auflöst. Dann wird mit Ammoniumchlorid auf pH 7.5-8.0 eingestellt, 4 Tropfen Murexidindikatorlösung zugefügt und mit Wasser auf 200 ml verdünnt. Die orangegelbe Lösung wird sofort mit 1/100 mol. Titriplexlösung bis zum Farbumschlag nach kräftigviolett titriert.

Es wurden 20 Einzelbestimmungen durchgeführt. Die Berechnung erfolgt, wie auf Seite 66 beschrieben, wobei das Molekulargewicht des Apigenin-7-Glykosid ($C_{21}H_{20}O_{10}$) = 432.39 der Berechnung zugrunde gelegt wurde.

Fisetin

Je 20 mg Fisetin werden auf dem Wasserbad in 10 ml Methanol gelöst und mit steigenden Mengen (1; 2; 5; bis 15 ml) einer 1.4 x 10^{-2} mol. wässrigen Natriumazetatlösung versetzt. Die Herstellung der Natriumazetatlösung erfolgte in der Weise, daß 190 mg CH_3 COO Na x 3 H_2O "Merck" in 100 ml Wasser gelöst wurden.

Man ergänzt jeweils mit Wasser von 50°C auf 150 ml und fällt den Komplex mit 10 ml Kupfersulfatlösung aus.

Nach 24stündigem Stehen wird die Bestimmung des im Komplex nicht gebundenen Kupfers wie bei Apigenin-7-Glucosid durchgeführt.

Es wurden 25 Einzelbestimmungen durchgeführt. Die Berechnung erfolgt wie auf Seite 66 beschrieben, wobei das Molekulargewicht Fisetin ($C_{15}H_{10}O_6$) = 286.23 der Berechnung zugrunde gelegt wurde.

Quercetin

Je 20 mg Quercetin werden auf dem Wasserbad in 10 ml Methanol gelöst und mit steigenden Mengen (5; 7.5; 10; bis 30 ml) einer 1.27×10^{-2} mol. wässrigen Natriumazetatlösung versetzt. Die Herstellung der Natriumazetatlösung erfolgte in der Weise, daß 173 mg CH_3 COO Na x 3 H_2O "Merck" in 100 ml Wasser gelöst wurde.

Man ergänzt jeweils mit Wasser von ca. 50°C auf 50 ml und fällt den Komplex mit 10 ml Kupfersulfatlösung aus.

Nach 24stündigem Stehen wird die Bestimmung des nicht gebundenen Kupfers wie bei Apigenin-7-Glucosid durchgeführt.

Die Berechnung erfolgt wie auf Seite 66 beschrieben. Es wurden 30 Einzelbestimmungen durchgeführt, wobei das Molekulargewicht Quercetin ($C_{15}H_{10}O_7 \cdot H_2O$) = 320.25 der Berechnung zugrunde gelegt wurde.

Rutin

Je 20 mg Rutin werden auf dem Wasserbad in 10 ml Methanol gelöst und mit steigenden Mengen (5; 10; 15; 20; bis 50 ml) einer 6×10^{-3} mol. wässrigen Natriumazetatlösung versetzt. Die Herstellung der Natriumazetatlösung erfolgte in der Weise, daß 82.6 mg CH_3 COO Na x 3 H_2O "Merck" in 100 ml Wasser gelöst wurde.

Man ergänzt jeweils mit Wasser von 50°C auf 50 ml und fällt dem Komplex mit 10 ml Kupfersulfatlösung aus. Man läßt 20 Minuten auf dem Wasserbad stehen und über Nacht erkalten.

Nach 24 Stunden wird die Bestimmung des nicht gebundenen Kupfers wie bei Apigenin-7-Glucosid durchgeführt.

Zur Aufstellung einer Kurve waren 39 Einzelbestimmungen erforderlich. Die Berechnung erfolgt wie auf Seite 66 beschrieben, wobei das Molekulargewicht Rutin ($C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3\ H_2O$) = 664.56 der Berechnung zugrunde gelegt wurde.

Morin

Je 20 mg Morin werden auf dem Wasserbad in 10 ml Methanol gelöst und mit steigenden Mengen (bis 100 ml) einer 1.18×10^{-2} mol. wässrigen Natriumazetatlösung versetzt. Die Herstellung der Natriumazetatlösung erfolgte in der Weise, daß 160 mg CH_3 COO Na x 3 H_2O "Merck" in 100 ml Wasser gelöst wurde.

Man ergänzt jeweils mit Wasser von 50°C auf 50 ml und fällt den Komplex mit 10 ml Kupfersulfatlösung aus.

Nach 24 Stunden wird die Bestimmung des nicht gebundenen überschüssigen Kupfers wie bei Apigenin-7-Glucosid durchgeführt.

Zur Aufstellung einer Kurve waren 42 Einzelbestimmungen erforderlich. Die Berechnung erfolgt wie auf Seite 66 beschrieben, wobei das Molekulargewicht Morin ($C_{15}H_{10}O_7 \cdot 2\ H_2O$) = 338.26 der Berechnung zugrunde gelegt wurde.

V. Quantitative titrimetrische Bestimmung von Flavonen bzw. Flavonolen durch Ausfällen der Kupfer-Komplexe

1.) Bestimmungen von Quercetin und Fisetin o h n e Natriumazetatzusatz

Etwa 20 mg Flavon werden genau gewogen, auf dem Wasserbad in 10 ml Methanol gelöst, mit 100 ml Wasser von 50°C versetzt und sofort mit 10 ml Kupfersulfatlösung gefällt. Dabei scheidet sich ein grüngelb bis braun gefärbter Niederschlag ab. Nach ca. 10 Min. nimmt man die Fällung vom Wasserbad und läßt über Nacht erkalten.

Nach ca. 24 Stunden wird die Lösung quantitativ in einen 200 ml-Meßkolben übergeführt, das Becherglas mit Wasser nachgespült und zur Marke aufgefüllt. Nach gutem Durchmischen wird durch ein trockenes Faltenfilter in einen trokkenen Erlenmeyer filtriert, wobei man die ersten 40 ml Filtrat verwirft.

100 ml des Filtrates werden mit so viel Ammoniaklösung versetzt, bis sich das entstandene Hydroxyd gerade wieder auflöst. Dann wird mit Ammoniumchloridlösung auf pH 7.5 - 8.0 eingestellt, 4 Tropfen Murexidindikatorlösung zugefügt und mit Wasser auf 200 ml verdünnt. Die orangegelbe Lösung wird sofort mit 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung bis zum Farbumschlag nach kräftigviolett titriert.

Berechnungsbeispiel Quercetin

Vorlage:	20 mg Quercetin/200 ml, dav. 100 ml	
Übertitriert:	10 ml $CuSO_4$-Lösg.=	11.88 ml 1/100 mol.Titripl.III-Lsg.
Zurücktitriert:		8.39 ml 1/100 mol.Titripl.III-Lsg.
Verbrauch:		3.49 ml 1/100 mol.Titripl.III-Lsg.
	=	2.22 mg gebundenes Cu^{++}

Berechnung: 1 Atom Cu^{++} : 1 Mol Flavon

$$Xn = \frac{G \cdot F}{C} \qquad X_1 = \frac{2.22 \cdot 320.25}{63.57} = 11.18 \text{ mg Quercetin}$$

X = Ergebnis in mg Flavon
n = Bestimmung
G = Gebundenes Kupfer in mg
F = M.G. Flavon
C = A.G. Kupfer

T a b e l l e 24

Quercetin-Bestimmung o h n e Natriumazetat

(Quercetin Monohydrat $C_{15}H_{10}O_7 \cdot H_2O$ MG 320.25)

Bestimmung	1	2	3	4	5	6
Einwaage in mg	22.20	20.20	20.90	21.10	19.50	20.40
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.51	7.51	7.51	7.51	7.51	7.51
Freies Cu^{++} in mg	5.29	5.51	5.44	5.41	5.58	5.46
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	3.49	3.14	3.25	3.30	3.04	3.22
=Gebundenes Cu^{++} in mg	2.22	2.00	2.07	2.10	1.93	2.05
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 1:1	11.18	10.06	10.43	10.57	9.73	10.31
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 2:1	22.36	20.12	20.86	21.14	19.46	20.62
Fehler ± %	+ 0.7	- 0.4	- 0.2	+ 0.2	- 0.2	+ 1.1

Bestimmung	7	8	9	10	11	12
Einwaage in mg	20.10	20.00	22.00	20.10	19.70	20.60
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.51	7.51	7.51	7.51	7.51	7.51
Freies Cu^{++} in mg	5.52	5.51	5.35	5.51	5.55	5.47
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	3.13	3.14	3.40	3.15	3.08	3.20
=Gebundenes Cu^{++} in mg	1.99	2.00	2.16	2.00	1.96	2.03
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 1:1	10.02	10.05	10.89	10.09	9.86	10.25
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 2:1	20.04	20.10	21.78	20.18	19.72	20.50
Fehler ± %	- 0.3	+ 0.5	- 1.0	+ 0.4	+ 0.1	- 0.5

T a b e l l e 25

Fisetin-Bestimmung o h n e Natriumazetat

(Fisetin: $C_{15}H_{10}O_6$ MG 286.23) Berechnung siehe Seite 66

Bestimmung	1	2	3	4	5	6
Einwaage in mg	20.10	19.80	21.30	20.40	21.90	20.60
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	6.83	6.84	6.79	6.82	6.71	6.77
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	1.13	1.12	1.20	1.15	1.32	1.24
=Gebundenes Cu^{++} in mg	0.72	0.71	0.76	0.73	0.84	0.78
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 1:1	3.23	3.21	3.44	3.29	3.78	3.55
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 6:1	19.38	19.26	20.64	19.74	22.68	21.30
Fehler ± %	- 3.6	- 2.7	- 3.1	- 3.3	+ 3.6	+ 3.4

Bestimmung	7	8	9	10	11	12
Einwaage in mg	20.80	21.10	20.60	19.90	21.00	20.50
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	6.77	6.75	6.77	6.80	6.76	6.78
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	1.23	1.26	1.23	1.18	1.25	1.22
=Gebundenes Cu^{++} in mg	0.78	0.80	0.78	0.75	0.79	0.77
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 1:1	3.52	3.61	3.52	3.38	3.58	3.49
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 6:1	21.12	21.66	21.12	20.28	21.48	20.94
Fehler ± %	+ 1.5	+ 2.7	+ 2.5	+ 1.9	+ 2.3	+ 2.2

2.) Bestimmung von Quercetin m i t Natriumazetatzusatz

Ausführung:

Etwa 20 mg Substanz werden genau gewogen und auf dem Wasserbad in 10 ml Methanol gelöst, mit 130 ml Wasser von 50°C versetzt, in dem 5 g Natriumazetat gelöst sind, und sofort mit 10 ml Kupfersulfatlösung gefällt. Dabei scheidet sich ein dunkelbraun gefärbter Niederschlag ab. Nach etwa 10 Minuten nimmt man die Fällung vom Wasserbad und läßt über Nacht erkalten.

Nach 24 Stunden wird die Lösung quantitativ in einen 200 ml-Meßkolben übergeführt, das Becherglas mit Wasser nachgespült und zur Marke aufgefüllt. Nach gutem Durchmischen wird durch ein trockenes Faltenfilter in einen trockenen Erlenmeyer filtriert, wobei man die ersten 40 ml Filtrat verwirft.

100 ml des Filtrates werden mit so viel Ammoniaklösung versetzt, bis sich das entstehende Hydroxyd gerade wieder auflöst. Dann wird mit Ammoniumchloridlösung auf pH 7.5 - 8.0 eingestellt, 4 Tropfen Murexidindikator-Lösung zugefügt und mit Wasser auf 200 ml verdünnt. Die orangegelbe Lösung wird sofort mit 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung bis zum Farbumschlag nach krüftigviolett titriert. Das Filtrat ist beinahe farblos.

Die Berechnung erfolgt wie auf Seite 66 bei der Bestimmung von Quercetin ohne Natriumazetatzusatz angegeben.

Tabelle 26

Quercetin-Bestimmung mit Natriumazetat
(Quercetin Monohydrat $C_{15}H_{10}O_7 \cdot H_2O$ MG 320.25)

Bestimmung	1	2	3	4	5
Einwaage in mg	21.60	20.90	21.10	21.20	19.90
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.51	7.51	7.51	7.51	7.51
Freies Cu^{++} in mg	3.21	3.33	3.24	3.26	3.61
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	6.77	6.58	6.71	6.68	6.14
=Gebundenes Cu^{++} in mg	4.33	4.18	4.27	4.25	3.90
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 1:1	21.68	21.07	21.49	21.39	19.66
Fehler ± %	+ 0.4	+ 0.8	+ 1.8	+ 1.0	- 1.2

Bestimmung	6	7	8	9	10	11
Einwaage in mg	18.80	19.50	19.40	20.10	20.90	20.80
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.51	7.51	7.51	7.51	7.51	7.51
Freies Cu^{++} in mg	3.80	3.63	3.68	3.60	3.40	3.42
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	5.84	6.08	6.02	6.15	6.47	6.43
=Gebundenes Cu^{++} in mg	3.71	3.88	3.83	3.91	4.11	4.09
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 1:1	18.70	19.47	19.28	19.70	20.72	20.60
Fehler ± %	- 0.5	- 0.1	- 0.6	- 2.0	- 0.9	- 1.0

Bestimmung	12	13	14	15	16
Einwaage in mg	20.60	18.20	19.00	18.60	18.60
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.51	7.51	7.51	7.51	7.51
Freies Cu^{++} in mg	3.47	3.91	3.69	3.75	3.78
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	6.35	5.67	6.01	5.92	5.86
=Gebundenes Cu^{++} in mg	4.04	3.60	3.82	3.76	3.73
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 1:1	20.33	18.16	19.25	18.96	18.77
Fehler ± %	- 1.3	- 0.2	+ 1.3	+ 1.9	+ 1.0

Berechnung: siehe Seite 66

3.) Bestimmung von Rutin m i t Natriumazetatzusatz

Etwa 20 mg Substanz werden genau gewogen und auf dem Wasserbad in 10 ml Methanol gelöst, mit 130 ml Wasser von 50°C versetzt, in dem 5 g Natriumazetat gelöst sind, und sofort mit 10 ml Kupfersulfatlösung gefällt. Dabei scheidet sich im Vergleich zum Versuch ohne Natriumazetat ein hellbraun gefärbter Niederschlag ab. Nach etwa 10 Minuten nimmt man die Fällung vom Wasserbad und läßt über Nacht erkalten.

Nach 24 Stunden wird die Lösung quantitativ in einen 200 ml-Meßkolben übergeführt, das Becherglas mit Wasser nachgespült und zur Marke aufgefüllt. Nach gutem Durchmischen wird durch ein trockenes Faltenfilter in einen trockenen Erlenmeyer filtriert, wobei man die ersten 40 ml Filtrat verwirft.

100 ml des Filtrates werden mit so viel Ammoniaklösung versetzt, bis sich das entstehende Hydroxyd gerade wieder auflöst. Dann wird mit Ammoniumchloridlösung auf pH 7.5 - 8.0 eingestellt, 4 Tropfen Murexidindikatorlösung zugefügt und mit Wasser auf 200 ml verdünnt. Die orangegelbe Lösung wird sofort mit 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung bis zum Farbumschlag nach kräftigviolett titriert. Durch die noch deutlich gelbgrüne Färbung im Filtrat ist die Erkennung des Umschlagspunktes erschwert.

Die Berechnung ist wie auf Seite 66 bei Quercetin angegeben durchzuführen. Dabei ist dieser Berechnung das Molekulargewicht von Rutin-Trihydrat ($C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3\ H_2O$) = 664.56 zugrunde zu legen.

T a b e l l e 27

Bestimmung von Rutin m i t Natriumazetat
(Rutin Trihydrat: $C_{27}H_{30}O_{16} \cdot 3H_2O$ MG 664.56)

Bestimmung	1	2	3	4	5	6
Einwaage in mg	21.90	21.00	21.60	21.50	20.00	20.90
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	5.42	5.53	5.44	5.47	5.64	5.57
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	3.35	3.18	3.32	3.28	3.01	3.12
=Gebundenes Cu^{++} in mg	2.13	2.02	2.11	2.09	1.91	1.98
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 1:1	22.26	21.13	22.06	21.80	20.00	20.73
Fehler ± %	+ 1.6	+ 0.6	+ 2.1	+ 1.5	-	- 1.3

Bestimmung	7	8	9	10	11	12
Einwaage in mg	20.90	20.60	19.60	18.70	18.90	18.40
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	5.56	5.59	5.66	5.73	5.72	5.78
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	3.13	3.08	2.98	2.86	2.88	2.78
=Gebundenes Cu^{++} in mg	1.99	1.96	1.89	1.82	1.83	1.77
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 1:1	20.80	20.47	19.80	19.01	19.14	18.47
Fehler ± %	- 0.5	- 0.6	+ 1.0	+ 1.7	+ 1.3	+ 0.4

Bestimmung	13	14	15	16
Einwaage in mg	20.40	20.50	20.00	20.30
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	5.59	5.60	5.64	5.62
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	3.08	3.06	3.01	3.04
=Gebundenes Cu^{++} in mg	1.96	1.95	1.91	1.93
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 1:1	20.47	20.33	20.00	20.20
Fehler ± %	+ 0.3	- 0.8	-	- 0.5

Berechnung: siehe Seite 66

4.) Bestimmung von Quercitrin m i t Natriumazetatzusatz

Zur Bestimmung von Quercitrin ist es notwendig, die Kupfersulfatlösung zuerst mit Natriumazetat zu versetzen und das entstehende Kupferhydroxyd mit etwas Essigsäure wieder in Lösung zu bringen. Erst dann kann die Flavonlösung, die etwa 20 mg Quercitrin genau, in 10 ml Methanol enthält, zugesetzt werden. Dabei fällt der Flavonkupferkomplex aus. Nach etwa 10 Minuten nimmt man die Fällung vom Wasserbad und läßt über Nacht erkalten.

Nach 24 Stunden wird die Lösung quantitativ in einen 200 ml Meßkolben übergeführt, das Becherglas mit Wasser nachgespült und zur Marke aufgefüllt. Nach gutem Durchmischen wird durch ein trockenes Faltenfilter in einen trockenen Erlenmeyer filtriert, wobei man die ersten 40 ml Filtrat verwirft.

100 ml des Filtrates werden mit so viel Ammoniaklösung versetzt, bis sich das entstandene Hydroxyd gerade wieder auflöst. Dann wird mit Ammoniumchloridlösung auf pH 7.5 - 8.0 eingestellt, 4 Tropfen Murexidindikatorlösung zugefügt und mit Wasser auf 200 ml verdünnt. Die orangegelbe Lösung wird sofort mit 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung bis zum Farbumschlag nach kräftigviolett titriert.

Die Berechnung erfolgt wie auf Seite 66 bei der Bestimmung von Quercetin o h n e Natriumazetatzusatz angegeben. Dabei ist dieser Berechnung das Molekulargewicht von Quercitrin-Dihydrat ($C_{21}H_{20}O_{11} \cdot 2\ H_2O$) = 484.40 zugrunde zu legen.

T a b e l l e 28

Bestimmung von Quercitrin m i t Natriumazetat

(Quercitrin Dihydrat: $C_{21}H_{20}O_{11} \cdot 2\ H_2O$ MG 484.40)

Bestimmung	1	2	3	4	5
Einwaage in mg	21.60	22.90	23.00	22.50	21.30
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	4.70	4.56	4.53	4.60	4.79
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	4.48	4.71	4.75	4.64	4.34
=Gebundenes Cu^{++} in mg	2.85	2.99	3.02	2.95	2.76
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 1:1	21.70	22.82	23.00	22.47	21.02
Fehler ± %	+ 0.5	- 0.3	-	- 0.2	- 1.3

Bestimmung	6	7	8	9	10
Einwaage in mg	19.80	20.70	20.60	19.60	19.20
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	4.96	4.85	4.87	4.90	4.98
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	4.07	4.25	4.22	4.17	4.04
=Gebundenes Cu^{++} in mg	2.59	2.70	2.68	2.65	2.57
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 1:1	19.71	20.58	20.44	20.20	19.57
Fehler ± %	- 0.5	- 0.6	- 0.8	+ 3.0	+ 1.9

Bestimmung	11	12	13	14	15	16
Einwaage in mg	20.00	19.60	20.30	21.00	20.20	20.50
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	4.85	4.91	4.87	4.81	4.90	4.87
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	4.24	4.15	4.21	4.31	4.17	4.22
=Gebundenes Cu^{++} in mg	2.70	2.64	2.68	2.74	2.65	2.68
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 1:1	20.54	20.10	20.39	20.87	20.20	20.44
Fehler ± %	+ 2.7	+ 2.5	+ 0.4	- 0.6	-	- 0.3

Berechnung: siehe Seite 66

5.) Bestimmung von Fisetin m i t Natriumazetatzusatz

Etwa 20 mg Fisetin werden genau gewogen und auf dem Wasserbad in 10 ml Methanol gelöst. Diese Lösung wird mit der eingestellten Kupfersulfatlösung versetzt. Man erhält eine erst hellbraune, dann sich dunkler färbende Ausfällung. Nun wird die wässrige Natriumazetatlösung bei etwa 80°C hinzugefügt und die Fällung noch etwa 10 Minuten auf dem Wasserbad belassen.

Man läßt 24 Stunden erkalten und führt am anderen Morgen die Lösung quantitativ in einen 200 ml Meßkolben über. Das Becherglas wird mit Wasser nachgespült und der Meßkolben zur Marke aufgefüllt. Nach gutem Durchmischen wird durch ein trockenes Faltenfilter in einen trockenen Erlenmeyer filtriert, wobei man die ersten 40 mg Filtrat verwirft. 100 ml des Filtrates werden mit so viel Ammoniaklösung versetzt, bis sich das entstandene Hydroxyd gerade wieder auflöst. Dann wird mit Ammoniumchloridlösung auf pH 7.5 - 8.0 eingestellt, 4 Tropfen Murexidindikatorlösung hinzugefügt und mit Wasser auf 200 ml verdünnt. Die orangegelbe Lösung wird sofort mit 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung bis zum Farbumschlag nach kräftigviolett titriert.

T a b e l l e 29

Bestimmung von Fisetin unter Zusatz von Natriumazetat
(Fisetin = $C_{15}H_{10}O_6$ MG 286.23)

Bestimmung	1	2	3	4	5	6
Einwaage in mg	21.90	20.80	21.20	21.30	19.70	20.10
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	5.02	5.15	5.09	5.09	5.38	5.31
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	3.99	3.77	3.88	3.88	3.42	3.53
Gebundenes Cu^{++} in mg	2.53	2.40	2.47	2.47	2.17	2.24
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 1:1	11.42	10.79	11.10	11.10	9.80	10.10
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 2:1	22.84	21.58	22.20	22.20	19.60	20.20
Fehler ± %	+ 4.3	+ 3.8	+ 4.8	+ 4.2	- 0.5	+ 0.5

Bestimmung	7	8	9	10	11	12
Einwaage in mg	19.00	19.60	21.10	20.40	21.20	20.90
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55	7.55
Freies Cu^{++} in mg	5.44	5.38	5.16	5.27	5.19	5.21
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	3.32	3.42	3.76	3.59	3.72	3.69
Gebundenes Cu^{++} in mg	2.11	2.17	2.39	2.28	2.36	2.35
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 1:1	9.50	9.80	10.76	10.28	10.65	10.56
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 2:1	19.00	19.60	21.52	20.56	21.30	21.12
Fehler ± %	-	-	+ 2.0	+ 0.8	+ 0.5	+ 1.1

VI. Jodometrische Bestimmung von Quercetin

Reagenzien und Substanzen:

1. Quercetin purum MG 302.25	Roth, Karlsruhe
2. Kupfersulfat krist.	Merck Nr. 2790
3. Kaliumjodid pro analysi	Merck Nr. 5043
4. Schwefelsäure 25%ig	
5. Natriumthiosulfatlösung, 1/10-normal	Merck Nr. 9950
6. Kaliumdichromatlösung, 1/10-normal	Merck Nr. 9928
7. Methanol pro analysi	Merck Nr. 6009
8. Stärkelösung	

Herstellung der Lösungen:

1. Quercetinlösung
   200 mg bei 105°C getrocknetes Quercetin werden mit Methanol zu 100 ml gelöst.
2. Kupfersulfatlösung, 1/100 molar
   2.5 g $CuSO_4 \times 5\ H_2O$ werden mit Wasser zu 1 l gelöst.
3. Natriumthiosulfatlösung, 1/100-normal
   100 ml Natriumthiosulfatlösung, 1/10-normal, genau abgemessen, werden mit ausgekochtem dest. Wasser zu 1 l verdünnt.
4. Kaliumdichromatlösung, 1/100-normal
   10 ml Kaliumdichromatlösung, 1/10-normal, genau abgemessen, werden bei 20°C in einem geeichten Meßkolben zu 100 ml verdünnt.

Einstellung der Natriumthiosulfatlösung, 1/100-normal

20 ml der Kaliumdichromatlösung, 1/100 molar, werden in einen Jodzahlkolben abgemessen, mit 30 ml Wasser verdünnt und mit 4 ml Schwefelsäure und 1 g Kaliumjodid versetzt. Nach 15 Min. wird das freigewordene Jod mit Natriumthiosulfatlösung gegen Stärkelösung titriert.

$$\text{Faktor} = \frac{20}{\text{Verbrauch Natriumthiosulfatlösung}} = \frac{20.00}{21.80} = 0.9174$$

Einstellung der Kupfersulfatlösung, 1/100-molar

20 ml der Kupfersulfatlösung, 1/100-molar, werden in einen Jodzahlkolben abgemessen, mit 30 ml Wasser verdünnt und mit 4 ml Schwefelsäure und 1 g Kaliumjodid versetzt. Nach kurzem Umschütteln wird mit der eingestellten Natriumthiosulfatlösung gegen Stärkelösung titriert.

$$\text{Faktor} = \frac{\text{Verbrauch Natriumthiosulfatlösung} \times F}{20} = \frac{20.8 \cdot 0.9174}{20.00}$$

$$= 0.9541$$

Arbeitsweise

10 ml der Quercetinlösung, entsprechend 20 mg Quercetin, werden in einen 100 ml-Meßkolben genau abgemessen und mit 50 ml Wasser verdünnt. Man erhitzt zum Sieden und fügt aus einer Pipette genau 20 ml Kupfersulfatlösung hinzu. Die Fällung läßt man über Nacht stehen, füllt danach mit Wasser bis zur Marke auf und filtriert nach gutem Durchmischen durch ein trockenes Filter in einen trockenen Erlenmeyerkolben, wobei man die ersten 20 ml des Filtrates verwirft. 50 ml des Filtrates werden in einem Jodzahlkolben mit 4 ml Schwefelsäure und 1 g Kaliumjodid versetzt und nach kurzem Umschütteln mit der Natriumthiosulfatlösung gegen Stärkelösung titriert.

T a b e l l e 30

Einwaage je 20 mg Quercetin

Bestimmung	I	II	III
Überschuß an Cu^{++} in mg	12.20	12.20	12.20
Freies Cu^{++} in mg	10.28	10.31	10.25
Gebundenes Cu^{++} in mg	1.92	1.89	1.95
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 1:1	9.69	9.54	9.87
Ergebnis in mg Flavon:Cu^{++} 2:1	19.38	19.08	19.74

Berechnung:

Quercetin mg $= V^{1)} \cdot Cu^{2)} \cdot Q^{3)} = 4.76 \cdot 63.57 \cdot 320.25 = 9.69$
1 : 1

1) V = (a - 2b)
   a = Vorlage Kupfersulfatlösung
   b = Verbrauch Natriumthiosulfatlösung für die Rücktitration

2) Cu = Äquivalentgewicht des Kupfers in mg

3) Q = Molekulargewicht des Quercetins in mg

VII. Aufnahme der UV-Spektren des 2:1- und 1:1-Quercetin-Kupfer-Komplexes

Quercetin : Kupfer=2 : 1

Man ging aus von einer 0.0128%igen äthanolischen Quercetinlösung und einer 0.005%igen Kupferlösung. Je 5 ml beider Lösungen werden gemischt, 0.1 ml der Mischung auf 3.5 ml aufgefüllt, so daß eine 5.7×10^{-6} mol. Lösung (berechnet auf Quercetin) vorlag und nach genau 15 Minuten im Zeiss-UV-Spektrophotometer mit einer 1 cm Küvetten-Schichtdicke gegen Äthanol "Merck" gemessen. Die Messungen wurden zwischen 230 mμ und 490 mμ in Abständen von je 5 mμ durchgeführt und ergaben folgende Maxima: 259 mμ, 370 mμ, 426 mμ.

Molare Quercetin-Konzentration der Meßlösung: 5.7×10^{-6}.

Quercetin : Kupfer=1 : 1

Aus vorhergehenden Untersuchungen ergab sich, daß zur Ausbildung des Quercetin-Kupfer-1:1-Komplexes die Anwesenheit von 5 Molen Natriumazetat notwendig ist. Es wurden deshalb je 5 ml der nachfolgenden Lösungen gemischt, 0.1 ml der Mischung mit Äthanol auf 3.5 ml aufgefüllt und nach genau 15 Min. im Zeiss-spektrophotometer mit einer 1 cm Küvettenschichtdicke gegen Äthanol "Merck" gemessen:

Quercetinlösung 2×10^{-4} mol. (6.4 mg Quercetin in 100 ml Äthanol)

Kupfersulfatlösung 2×10^{-4} mol. (5 mg Kupfersulfat in 100 ml Methanol)

Natriumazetatlösung 5×10^{-4} mol. (6.8 mg Natriumazetat p.a. in 100 ml Methanol)

Die Messungen wurden zwischen 215 und 490 mμ in Abständen von 5 mμ durchgeführt und ergaben folgende Maxima: 274 mμ und 437 mμ.

Molare Quercetin-Konzentration der Meßlösung: 1.9×10^{-6}

Die Messung des Quercetin-Spektrums erfolgte in 3×10^{-5} mol. äthanol. Lösung.

VIII. Komplexometrische Bestimmung von Flavonen in pharmazeutischen Präparaten

1.) Bestimmung von Rutin in Birutan-Tabletten

Hersteller: E. Merck, Darmstadt
Zusammensetzung: 1 Tablette = 50 mg Rutin
Durchschnittsgewicht von 10 Tabletten: 178.2 mg.

Ausführung:

a) 4 Tabletten werden in einer Reibschale fein zerrieben und in einen Glasfiltertiegel G 3 davon 71.2 mg, entsprechend 20 mg Rutin, eingewogen. Man läßt nun in einem Becherglas 20 ml Methanol durchtropfen, wobei das Rutin quantitativ aus der Tablettenmasse herausgelöst wird. Das Methanol dampft man auf 10 ml ein und fällt auf dem Wasserbad den Kupfer-Rutin-Komplex mit 10 ml Kupfersulfatlösung und unter Zusatz von 2 g festem Natriumazetat aus. Nachdem sich der Niederschlag flockig abgesetzt hat, nimmt man die Fällung vom Wasserbad und läßt über Nacht stehen.

Die Bestimmung des überschüssigen Kupfers wird komplexometrisch wie auf Seite 71 durchgeführt. Der Berechnung wird die Bildung des Komplexes im Verhältnis 1 Mol Rutin : 1 Mol Kupfer zugrunde gelegt.

T a b e l l e 31

Bestimmung	I	II
Durchschnittsgewicht 1 Tabl. in mg	178.20	178.20
= entsprechend Rutin in mg	50.00	50.00
Einwaage der pulv. Tablette in mg	71.20	71.20
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.41	7.41
Freies Cu^{++} in mg	5.47	5.44
Verbrauch 1/100 mol.Titriplex-III-Lsg.	3.05	3.09
= Gebundenes Cu^{++} in mg	1.94	1.97
Rutin-Gehalt in mg pro Tablette	50.76	51.54
Fehler $\pm$ %	+ 1.5	+ 3.1

Berechnung: $r_n = \frac{Gn \cdot R \cdot T}{C \cdot E}$

$$r_I = \frac{194 \cdot 664.56 \cdot 178.2}{63.57 \cdot 71.2}$$

$$= 50.76$$

r = Rutingehalt in mg
n = Bestimmung
G = Gebundenes Cu^{++} in mg
R = MG Rutin
T = Durchschnittsgewicht 1 Tablette
C = MG Kupfer
E = Einwaage der pulv. Tablette in mg

b) Zur Sicherstellung dieser Bestimmungsmethode wurden dem methanolischen Tablettenextrakt verschiedene Mengen Rutin zugesetzt und wie folgt verfahren:

71.1 mg der fein zerriebenen Tabletten, entsprechend 20 mg Rutin, werden in einen Glasfiltertiegel G 3 eingewogen und das Rutin durch Durchtropfenlassen von 20 ml Methanol herausgelöst. Dem methanolischen Extrakt werden

I. 13.0 mg Rutin
II. 8.0 mg Rutin jeweils gelöst in 10 ml Methanol zugesetzt.

Die vereinigten Lösungen werden auf ca. 10 ml eingeengt und der Komplex durch Zugabe von 10 ml Kupfersulfatlösung und 1 g festem Natriumazetat ausgefällt.

Das überschüssige Kupfer wird komplexometrisch wie auf Seite 71 bestimmt.

Der Berechnung wird die Bildung des Komplexes im Verhältnis 1 Mol Rutin : 1 Mol Kupfer zugrunde gelegt.

T a b e l l e 32

Bestimmung	I	II
Einwaage der pulv.Tabl. in mg	71.20	71.20
= entsprechend mg Rutin	20.00	20.00
Einwaage Rutin in mg	13.00	8.00
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.41	7.41
Freies Cu^{++} in mg	4.33	4.79
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lsg.	4.84	4.12
= Gebundenes Cu^{++} in mg	3.08	2.62
Ergebnis in mg, Rutin:Cu^{++} 1:1	32.2	27.4
Fehler ± %	- 2.4	- 2.1

Berechnung: $X_n = \frac{G_n \cdot R}{C}$

$$X_I = \frac{3.08 \cdot 664.56}{63.57}$$

$$= 32.2$$

X = Ergebnis Rutin in mg
n = Bestimmung
G = Gebundenes Kupfer in mg
R = MG Rutin (664.56)
C = MG Kupfer (63.57)

2.) Bestimmung von Rutin in Rutinion-Tabletten

Hersteller: Rhein-Chemie, Heidelberg
Zusammensetzung: 1 Tablette = 20 mg Rutin
Durchschnittsgewicht von 10 Tabletten: 81.23 mg

Ausführung:

4 Tabletten werden in einer Reibschale fein zerrieben und in einen Glasfiltertiegel G 3 davon 81.23 mg, entsprechend

20 mg Rutin, eingewogen. Man läßt nun in ein Becherglas 20 ml Methanol durchtropfen, wobei das Rutin quantitativ aus der Tablettenmasse herausgelöst wird. Das Methanol dampft man auf 10 ml ein und fällt aus dem Wasserbad den Kupfer-Rutin-Komplex mit 10 ml Kupfersulfatlösung und unter Zusatz von 2 g festem Natriumazetat aus. Nachdem sich der Niederschlag flockig abgesetzt hat, nimmt man die Fällung vom Wasserbad und läßt über Nacht stehen.

Die Bestimmung des überschüssigen Kupfers wird komplexometrisch wie auf Seite 71 durchgeführt. Bei der Berechnung ist der Komplex im Verhältnis 1 Mol Rutin : 1 Mol Kupfer zugrunde gelegt.

T a b e l l e 33

Bestimmung	I	II
Einwaage der pulv. Tabl. in mg	81.23	81.23
= durchschnittl.Tablettengewicht in mg	81.23	81.23
= entsprechend Rutin in mg	20.00	20.00
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.41	7.41
Freies Cu^{++} in mg	5.49	5.52
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lsg.	3.02	2.97
= Gebundenes Cu^{++} in mg	1.92	1.89
Rutingehalt in mg pro Tablette	20.07	19.74
Fehler $\pm$ %	+ 0.4	- 1.3

Die Berechnung erfolgt wie auf Seite 82 angegeben.

3.) Bestimmung von Rutin in Rutinion-Ampullen

Hersteller: Rhein-Chemie, Heidelberg
Zusammensetzung: 1 Amp. = 2 ml = 100 mg Wirkstoff (Rutin)

Ausführung:

a) Der Inhalt von 2 Ampullen wird gemischt und davon in einem 50 ml Meßkolben 2 ml genau abpipettiert. Nun wird mit wässrigem Methanol (1:1) zur Marke aufgefüllt. 10 ml (= 20 mg Rutin) der Verdünnung werden auf dem

Wasserbad mit 10 ml Kupfersulfatlösung versetzt und durch Zugabe von 2 g festem Natriumazetat der Komplex ausgefällt. Nachdem sich der Niederschlag flockig abgesetzt hat, nimmt man diesen vom Wasserbad und läßt über Nacht stehen.

Die Bestimmung des überschüssigen Kupfers wird komplexometrisch wie auf Seite 71 durchgeführt. Der Berechnung wird die Bildung des Komplexes im Verhältnis 1 Mol Rutin : 1 Mol Kupfer zugrunde gelegt.

T a b e l l e 34

Bestimmung	I	II
Vorlage in ml 1/5 Ampulle	0.40	0.40
= entsprechend mg Rutin	20.00	20.00
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.41	7.41
Freies Cu^{++} in mg	5.51	5.52
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	2.99	2.97
= Gebundenes Cu^{++} in mg	1.90	1.89
Rutingehalt in mg pro Ampulle	99.30	98.80
Fehler $\pm$ %	- 0.7	- 1.2

Berechnung: $r_n = \frac{G_n \cdot R \cdot 5}{C}$

$r_I = \frac{1.90 \cdot 664.56 \cdot 5}{63.57}$

$= 99.30$

r = Rutingehalt in mg pro Ampulle
n = Bestimmung
G = Gebundenes Cu^{++} in mg
R = MG Rutin
C = MG Kupfer

b) Zur Sicherstellung dieser Bestimmungsmethode von in Ampullen gelöstem Rutin werden der Ampullenlösung verschiedene Mengen Rutin "Merck" zugewogen und dann die Gehaltsbestimmung durchgeführt.

Der Inhalt von 2 Ampullen wird gemischt, davon in einen 50 ml Meßkolben 2 ml genau abpipettiert und mit wässrigem Methanol (1:1) zur Marke aufgefüllt.

10 ml der Verdünnung (= 20 mg Rutin) werden mit
I. 11.6 mg Rutin "Merck"
II. 5.0 mg Rutin "Merck"
jeweils gelöst in 10 ml Methanol, versetzt, und auf dem Wasserbad mit 10 ml Kupfersulfatlösung, sowie 2 g festem Natriumazetat der Komplex ausgefällt.

Nachdem sich der Niederschlag flockig abgesetzt hat, nimmt man die Fällung vom Wasserbad und läßt über Nacht erkalten. Die Bestimmung des überschüssigen Kupfers wird komplexometrisch wie auf Seite 71 durchgeführt.

T a b e l l e 35

Bestimmung	I	II
Vorlage in ml 1/5 Ampulle	0.40	0.40
= entsprechend Rutin in mg	20.00	20.00
Einwaage Rutin in mg	11.60	5.00
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.41	7.41
Freies Cu^{++} in mg	4.42	5.03
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lsg.	4.70	3.74
= Gebundenes Cu^{++} in mg	2.99	2.38
Ergebnis in mg, Rutin:Cu^{++} 1:1	31.26	24.88
Fehler $\pm$ %	- 1.0	- 0.5

Die Berechnung erfolgt wie auf Seite 83 angegeben.

IX. Nebeneinander-Bestimmung von Quercetin und Rutin

1.) Quercetin-Rutin-Gemisch 1:1

Bestimmung komplexometrisch

Reagenzien:

Salzsäure 5%ig
Methanol p.a.
Kupfersulfatlösung 3.0 g $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$ p.a. ad 1000 ml Wasser. Der Faktor wird gegen die n/10 Titriplex-III-Lösung eingestellt.
Titriplex-III-Lösung n/100 aus n/10 von 'Merck'
Murexid-Indikatorlösung 0.1 g ad 5 ml Wasser
Ammoniaklösung 10%ig
Ammonchloridlösung wässrig, 1 + 3

Ausführung:

a) Bestimmung von Quercetin neben Rutin
Je 20 mg der beiden Substanzen werden in 20 ml Methanol auf dem Wasserbad gelöst, das Lösungsmittel auf 10 ml eingedampft und mit 10 ml der Kupfersulfatlösung der Komplex ausgefällt. Die Fällung wird sofort vom Wasserbad genommen und der Niederschlag über Nacht in der Lösung stehen gelassen. Dann wird in einen 100 ml Meßkolben übergeführt, zur Marke aufgefüllt und durch ein trockenes Faltenfilter in einen trockenen Erlenmeyerkolben filtriert. Etwa 30 ml des gelbgrünen Filtrates werden verworfen, dann 50 ml davon mit 6 Tropfen der Ammoniaklösung und danach mit 8 - 10 ml der Ammonchloridlösung versetzt, so daß der pH-Wert von 7.5 - 8.0 erreicht ist. Man gibt nun 4 Tropfen der frisch bereiteten Murexidlösung hinzu und verdünnt mit 100 ml Wasser. Nun wird mit der Titriplex-III-Lösung bis zum Farbumschlag von gelb nach rot-violett titriert.

T a b e l l e 36a

Quercetin- und Rutin-Einwaage je 20 mg

Bestimmung	I	II
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.66	7.66
Nicht gebundenes Cu^{++} in mg	5.57	5.67
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lsg.	3.29	3.13
Gebundenes Cu^{++} in mg	2.09	1.99
Ergebnis Quercetin in mg	21.06	20.05

Berechnung: Quercetin : Kupfer = 2 : 1

$$X_{nq} = \frac{Gnq \cdot 2\,Q}{C}$$

$$= Gnq \cdot k$$

$$X_{Iq} = 2.09 \cdot 10.076$$

$$= 21.06$$

Xq = Ergebnis Quercetin in mg
n = Bestimmung
Gq = Gebundenes Kupfer für Quercetin in mg
Q = MG Quercetin (320.25) (Quercetin x 1 H_2O)
C = AG Kupfer (63.57)

$$k = \frac{2\,Q}{C} = \frac{2 \cdot 320.25}{63.57} =$$

$$= 10.076$$

b) Bestimmung von Rutin neben Quercetin

Die Substanzen (je 20 mg) werden mit 10 ml HCl 5% 60 Min. im siedenden Wasserbad behandelt, wobei Rutin vollständig hydrolisiert, was chromatographisch nachgeprüft wurde. Danach wird das Reaktionsgemisch sofort mit kaltem Wasser abgekühlt und das ausgefallene Quercetin auf einem Glasfiltertiegel G 3 gesammelt. Das salzsaure Filtrat war klar und farblos. Mit Wasser wird bis zur neutralen Reaktion gewaschen. Danach läßt man in kleinen Anteilen 20 ml siedendes Methanol durch den Filtertiegel in ein 150 ml Becherglas tropfen. Das Quercetin geht dabei quantitativ in Lösung. Das Methanol wird bis auf 10 ml verdampft und der Komplex mit 10 ml der Kupfersulfatlösung gefällt. Die Weiterverarbeitung und Titration wird wie unter a) beschrieben vorgenommen.

T a b e l l e 36b

Bestimmung des Gesamt-Quercetins
Rutin- und Quercetin-Einwaage je 20 mg

Bestimmung	I	II
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.66	7.66
Nicht gebundenes Cu^{++} in mg	4.66	4.70
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lsg.	4.73	4.65
Gebundenes Cu^{++} in mg	3.00	2.96
Gefundenes Quercetin in mg	9.16	9.77
Umgerechnet auf Rutin in mg	19.02	20.27
Fehler $\pm$ %	- 5.0	+ 1.4

Berechnung: Quercetin : Kupfer = 2 :1

$$Xnr = \frac{Gng \cdot 2\,Q}{C} - \frac{Gnq \cdot 2 \cdot Q}{C} \cdot \frac{R}{Q}$$

$$= \frac{2 \cdot \not{Q} \cdot (Gng - Gnq) \cdot R}{C \cdot \not{Q}}$$

$$= \frac{2 \cdot (Gng - Gnq) \cdot R}{C}$$

$$= K \cdot (Gng - Gnq)$$

$$X_{Ir} = 20.9 \cdot (3.00 - 2.09)$$

$$= 20.9 \cdot 0.91$$

$$= 19.02$$

Xnr = Ergebnis Rutin in mg
n = Bestimmung
Gng= Gebundenes Cu^{++} für Gesamt-Quercetin in mg
Gnq= Geb.Cu^{++} für Quercetin in mg
R = MG Rutin (664.56) (Rutin x 3 H_2O)
Q = MG Quercetin (320.25) (Quercetin x 1 H_2O)
C = A.G. Kupfer (63.57)

$$K = \frac{2\,R}{C} = \frac{2 \cdot 664.56}{63.57} =$$

$$= 20.90$$

2.) Rutin-Quercetin-Gemisch 3:1 und 6:1

Bestimmung jodometrisch

Reagenzien:

Quercetin purum MG 302.25	Roth, Karlsruhe
Rutin	
Kupfersulfat krist.	Merck Nr. 2790
Kaliumjodid zur Analyse	Merck Nr. 5043
Natriumthiosulfatlösung, 1/10-normal	Merck Nr. 9950
Kaliumdichromatlösung, 1/10-normal	Merck Nr. 9928
Methanol zur Analyse	Merck Nr. 6009
Schwefelsäure 25%ig	
Salzsäure 5%ig	
Stärkelösung	

Herstellung der Lösungen:

1. Kupfersulfatlösung, 1/100-molar:
   2.5 g $CuSO_4$ x 5 H_2O werden mit Wasser zu 1 l gelöst.
2. Natriumthiosulfatlösung, 1/100-normal:
   100 ml Natriumthiosulfatlösung, 1/10 -normal; genau abgemessen, werden mit ausgekochtem dest. Wasser zu 1 l verdünnt.
3. Kaliumdichromatlösung, 1/100-normal:
   10 ml Kaliumdichromatlösung, 1/10-normal, genau abgemessen, werden bei 20°C in einem geeichten Meßkolben zu 100 ml verdünnt.
4. Quercetin-Rutin-Lösung
   a) 100 mg getrocknetes Quercetin und
      300 mg getrocknetes Rutin werden mit Methanol zu 100 ml gelöst
   b) 100 mg getrocknetes Quercetin und
      600 mg getrocknetes Rutin werden mit Methanol zu 100 ml gelöst.

Einstellung der Natriumthiosulfatlösung, 1/100-normal

20 ml der Kaliumdichromatlösung, 1/100-molar, werden in einen Jodzahlkolben abgemessen, mit 30 ml Wasser verdünnt und mit 4 ml Schwefelsäure und 1 g Kaliumjodid versetzt. Nach 15 Min. wird das freigewordene Jod mit Natriumthiosulfatlösung gegen Stärkelösung titriert.

$$\text{Faktor} = \frac{20}{\text{Verbrauch Natriumthiosulfatlösung}} = \frac{20.00}{21.80} = 0.9174$$

Einstellung der Kupfersulfatlösung, 1/100-molar

20 ml der Kupfersulfatlösung, 1/100-molar, werden in einen Jodzahlkolben abgemessen, mit 30 ml Wasser verdünnt und mit 4 ml Schwefelsäure und 1 g Kaliumjodid versetzt. Nach kurzem Umschütteln wird mit der eingestellten Natriumthiosulfatlösung gegen Stärkelösung titriert.

$$\text{Faktor} = \frac{\text{Verbrauch Natriumthiosulfatlösung} \times F}{20} = \frac{20.8 \cdot 0.9174}{20.00} = 0.9541$$

a) Bestimmung von Quercetin neben Rutin
Je 20 ml der Flavonlösungen, entsprechend 20 mg Quercetin, werden in einen 100 ml Meßkolben genau abgemessen und mit 50 ml Wasser verdünnt.

Man erhitzt zum Sieden und fügt aus einer Pipette genau 20 ml der Kupfersulfatlösung hinzu.

Die Fällungen läßt man über Nacht stehen, füllt danach mit Wasser zur Marke auf und filtriert nach gutem Durchmischen durch ein trockenes Filter in einen trockenen Erlenmeyerkolben, wobei man die ersten 20 ml des Filtrates verwirft. 50 ml des Filtrates werden in einem Jodzahlkolben mit 4 ml Schwefelsäure und 1 g Kaliumjodid versetzt und nach kurzem Umschütteln mit der Natriumthiosulfatlösung gegen Stärkelösung titriert.

Berechnung: 1 ml 0.01 molare Kupfersulfatlösung entspricht 3.023 mg Quercetin

mg Quercetin = $V^{1)} \cdot 2\ F^{2)}$

b) Bestimmung von Rutin neben Quercetin

Von der Quercetinlösung a) werden je 10 ml, von b) je 5 ml abpipettiert und auf dem Wasserbad zur Trockene verdampft. Nach Zugabe von 10 ml 5%iger Salzsäure wird 1 Stunde am Rückflußkühler zum Sieden erhitzt. Nach 3stündigem Stehen bei etwa 0° wird das ausgefallene Quercetin in einem Glasfiltertiegel G 3 gesammelt und mit 20 ml kaltem Wasser gewaschen. Das Quercetin wird in heißem Methanol gelöst und die Weiterverarbeitung der Bestimmung wie unter a) beschrieben vorgenommen.

Berechnung:

mg Gesamt-Quercetin a) $V^{1)} \times 2 \times 2 \times F^{2)}$

b) $V^{1)} \times 4 \times 2 \times F^{2)}$

mg Quercetin aus Rutin Wert 2) - Wert 1) = x

Umrechnung mg Quercetin aus Rutin in Rutin

mg Rutin $X \times R^{3)}$

$R^{3)}$ = Umrechnungsfaktor Quercetin in Rutin

$$\frac{664.56}{320.245} = 2.0751$$

1.) Verbrauch 1/100 mol. Kupfersulfatlösung
V = (a - 2 b)
a = Vorlage Kupfersulfatlösung
b = Verbrauch Natriumthiosulfatlösung

2.) F = 1/100 Milligramm Äquivalent des Quercetins

T a b e l l e 37a

Jodometrische Bestimmung von Quercetin und Rutin nebeneinander
Einwaage: Quercetin 20 mg, Rutin 60 mg

Bestimmung	I	II	III	IV	V	VI
Verbrauch Kupfersulfat in ml vor der Hydrolyse	3.30	3.30	3.48	3.48	3.58	3.58
Verbrauch Kupfersulfat in ml nach der Hydrolyse	3.86	3.86	4.04	4.04	4.12	4.12
Gefundene Menge Quercetin in mg	19.95	19.95	21.04	21.04	21.64	21.64
Gefundene Menge Gesamt-Quercetin in mg	46.67	46.67	48.85	48.85	49.82	49.82
Gefundene Menge Quercetin aus Rutin	26.72	26.72	27.81	27.81	28.18	28.18
Gefundene Menge Rutin in mg	55.45	55.45	57.71	57.71	59.84	59.84

T a b e l l e 37b

Einwaage: Quercetin 20 mg, Rutin 120 mg

Bestimmung	I	II	III	IV	V	VI
Verbrauch Kupfersulfat in ml vor der Hydrolyse	3.20	3.20	3.40	3.40	3.40	3.48
Verbrauch Kupfersulfat in ml nach der Hydrolyse	3.02	3.12	3.12	3.20	3.30	3.30
Gefundene Menge Quercetin in mg	19.34	19.34	20.56	20.56	20.56	21.04
Gefundene Menge Gesamt-Quercetin in mg	73.04	75.45	75.45	77.39	79.80	79.80
Gefundene Menge Quercetin aus Rutin	53.70	56.11	54.89	56.83	59.24	58.76
Gefundene Menge Rutin in mg	111.50	116.40	113.90	117.90	122.90	121.90

X. Untersuchungen über das Kupfer-Komplexbildungsvermögen von m-Digallussäure "Roth"

Reagenzien:

Kupfersulfatlösung 1/100 molar
3.0 g Kupfersulfat p.a. "Merck" ($CuSO_4 \times 5\ H_2O$) wurden mit dest. Wasser zu 1 l gelöst.

Titriplex-III-Lösung 1/100 molar
20 ml der 1/10 mol. Titriplex-III-Lösung "Merck" wurden im Meßkolben mit dest. Wasser zu 200 ml verdünnt.

Natriumazetat p.a. "Merck" $CH_3 \cdot COONa + 3\ H_2O$

Methanol p.a.

Murexid-Lösung
0.1 g Murexid "Riedel de Haen" wurden in 5 ml Wasser aufgeschlämmt.

Wässrige Ammoniumchlorid-Lösung 1 + 3

Wässrige Ammoniak-Lösung verd. 1 + 5

Universal-Indikator Papier "Merck"

m-Digallussäure "Fa. Roth"

1.) Ausführung o h n e Natriumazetatzusatz

20 mg m-Digallussäure "Roth" wurden in einen 100 ml Meßkolben eingewogen, in 10 ml Wasser gelöst, mit 10 ml Kupfersulfatlösung (geringer Überschuß)(Tabelle 38a) bzw. 50 ml Kupfersulfatlösung (großer Überschuß) (Tabelle 38b) versetzt und auf dem Asbestdrahtnetz zum Sieden erhitzt. Ein brauner Niederschlag schied sich ab.

Man ließ die Fällung über Nacht erkalten und füllte nach 24 Stunden mit Wasser zur Marke auf. Nach gutem Durchmischen wurde durch ein trockenes Filter in einen Erlenmeyer filtriert, wobei man die ersten 40 ml des Filtrates verwarf. 150 ml des klaren Filtrates wurden genau abpipettiert und mit soviel verdünnter Ammoniaklösung versetzt, bis sich das

entstandene Kupferhydroxyd gerade wieder auflöst. Dabei schied sich außerdem ein brauner flockiger Niederschlag ab, welcher auch im Überschuß von Ammoniaklösung bestehen blieb. Es wurde mit Ammoniumchloridlösung (1+3) auf pH 7.8 - 8.0 eingestellt, 4 Tropfen Murexidindikator-Lösung zugefügt und mit Wasser auf 200 ml verdünnt. Die orangegelb gefärbte Lösung wurde sofort mit 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung zum Farbumschlag nach kräftigviolett mit der Feinbürette titriert.

T a b e l l e 38a

Bestimmung von m-Digallussäure o h n e Natriumazetatzusatz
Einwaage m-Digallussäure "Roth": 20.00 mg
Zugabe $CuSO_4$-Lösung: 10 ml

Bestimmung	I	II
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.66	7.66
Freies Cu^{++} in mg	3.24	3.40
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lsg.	6.95	6.70
Gebundenes Cu^{++} in mg	4.42	4.26
Gefunden m-Digallussäure "Roth" in mg, berechnet auf 1 Mol Kupfer : 1 Mol m-Digallussäure	22.40	21.60
Fehler $\pm$ %	+11.0	+ 8.0

Berechnung: 1 Mol Kupfer : 1 Mol m-Digallussäure

$$Xn = \frac{Gn \cdot D}{C}$$

$$X_I = \frac{4.42 \cdot 322.23}{63.57}$$

$$= 22.40$$

X = Ergebnis m-Digallussäure "Roth" in mg
n = Bestimmung
G = Gebundenes Kupfer in mg
D = MG m-Digallussäure
C = MG Kupfer

T a b e l l e 38b

Bestimmung von m-Digallussäure o h n e Natriumazetatzusatz
Einwaage: m-Digallussäure "Roth": 20.00 mg
Zugabe $CuSO_4$-Lösung: 50 ml

Bestimmung	I	II
Überschuß an Cu^{++} in mg	38.30	38.30
Freies Cu^{++} in mg	34.55	34.23
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lsg.	5.90	6.40
Gebundenes Cu^{++} in mg	3.75	4.07
Gefunden m-Digallussäure "Roth" in mg, berechnet auf 1 Mol Kupfer : 1 Mol m-Digallussäure	19.02	20.62
Fehler $\pm$ %	- 5.0	+ 3.1

2.) Ausführung m i t Natriumazetatzusatz

Die m-Digallussäure "Roth" wurde genau gewogen und in einem 100 ml Meßkolben in 10 ml Wasser gelöst. Dann wurde 1 g Natriumazetat hinzugefügt. Zur Fällung des Komplexes wurden einmal 10 ml (geringer Überschuß) (Tabelle 39a), zum anderen 20 ml (mäßiger Überschuß) (Tabelle 39b) und außerdem 50 ml (großer Überschuß) (Tabelle 39c) an Kupfersulfatlösung zugesetzt. In jedem Falle fiel schon in der Kälte ein brauner, flockiger Niederschlag aus. Es wurde zum Sieden erhitzt und über Nacht erkalten gelassen.

Nach 24 Stunden füllte man mit Wasser zur Marke auf und filtrierte nach gutem Durchmischen durch ein trockenes Filter in einen trockenen Erlenmeyer, wobei man die ersten 40 ml des Filtrates verwarf. 150 ml des klaren Filtrates wurden abpipettiert und mit soviel verdünnter Ammoniaklösung versetzt, bis sich das entstandene Kupferhydroxyd gerade wieder aufgelöst hatte. Mit Ammoniumchloridlösung (1+3) wurde auf pH 7.8 - 8.0 eingestellt, 4 Tropfen Murexid-Indikatorlösung hinzugefügt und mit Wasser auf 200 ml verdünnt. Die orangegelb gefärbte Lösung wurde sofort mit 1/100 mol. Titriplex-

III-Lösung bis zum Farbumschlag nach krüftigviolett mit einer Feinbürette titriert.

T a b e l l e 39a

Bestimmung von m-Digallussäure m i t Natriumazetatzusatz
Einwaage m-Digallussäure "Roth": 20.00 mg
Zugabe $CuSO_4$-Lösung: 10 ml

Bestimmung	I	II
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.66	7.66
Freies Cu^{++} in mg	0.70	0.63
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lsg. in ml	10.95	11.05
Gebundenes Cu^{++} in mg	6.96	7.03
Gefunden m-Digallussäure "Roth" berechnet auf		
a) 1 Mol Kupfer : 1 Mol m-Digallussäure	35.28	35.63
b) $1\frac{3}{4}$ Mol Kupfer : 1 Mol m-Digallussäure	20.16	20.36
Fehler $\pm$ %	+ 0.8	+ 1.8

Berechnung: siehe Seite 95

T a b e l l e 39b

Bestimmung von m-Digallussäure m i t Natriumazetatzusatz
Einwaage m-Digallussäure "Roth": 20.00 mg
Zugabe $CuSO_4$-Lösung: 20 ml

Bestimmung	I	II
Überschuß an Cu^{++} in mg	15.32	15.32
Freies Cu^{++} in mg	5.85	5.72
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lsg. in ml	14.90	15.10
Gebundenes Cu^{++} in mg	9.47	9.60
Gefunden m-Digallussäure "Roth berechnet auf		
a) 1 Mol Kupfer : 1 Mol m-Digallussäure	48.00	48.65
b) $2\frac{1}{2}$ Mol Kupfer : 1 Mol m-Digallussäure	19.20	19.48
Fehler $\pm$ %	- 4.0	- 2.5

Berechnung: siehe Seite 95

T a b e l l e 39c

Bestimmung von m-Digallussäure m i t Natriumazetatzusatz
Einwaage m-Digallussäure "Roth": 20.00 mg
Zugabe $CuSO_4$-Lösung: 50 ml

Bestimmung	I	II
Überschuß an Cu^{++} in mg	38.30	38.30
Freies Cu^{++} in mg	23.39	23.27
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lsg.in ml	23.45	23.65
Gebundenes Cu^{++} in mg	14.91	15.03
Gefunden m-Digallussäure "Roth" berechnet auf		
a) 1 Mol Kupfer : 1 Mol m-Digallussäure	75.57	76.18
b) $3\frac{1}{2}$ Mol Kupfer : 1 Mol m-Digallussäure	21.59	21.77
Fehler $\pm$ %	+ 8.0	+ 8.9

Berechnung: siehe Seite 95

XI. Komplexometrische Bestimmung des Tannins

Reagenzien:

Kupfersulfatlösung 1/100 molar
3.0 g Kupfersulfat p.a. "Merck" ($CuSO_4 \times 5\ H_2O$) wurden mit dest. Wasser zu 1 l gelöst.

Titriplex-III-Lösung 1/100 molar
20 ml der 1/10 mol. Titriplex-III-Lösung "Merck" wurden im Meßkolben mit dest. Wasser zu 200 ml verdünnt.

Natriumazetat p.a. "Merck" $CH_3 \cdot COONa + 3\ H_2O$

Methanol p.a. "Merck"

Murexid-Lösung
0.1 g Murexid "Riedel de Haen" wurden in 5 ml Wasser aufgeschlämmt.

Wässrige Ammoniumchlorid-Lösung 1 + 3

Wässrige Ammoniak-Lösung verd. 1 + 5

Universal-Indikator Papier "Merck"

Tannin "Merck"

Tannin DAB (Andreae-Noris-Zahn)

1.) Ausführung o h n e Natriumazetatzusatz

500 mg Tannin wurden zu 250 ml in destilliertem Wasser gelöst. 10 ml der Tanninlösung (entsprechend 20 mg Tannin) wurden in einen 100 ml Meßkolben genau abpipettiert, mit 10 ml (bei geringem Überschuß) (Tabelle 40a) bzw. 50 ml (bei großem Überschuß) (Tabelle 40b) der eingestellten Kupfersulfatlösung versetzt und nach dem Erhitzen zum Sieden und dem Stehen über Nacht zur Marke aufgefüllt.

Nach gutem Durchmischen wurde durch ein trockenes Faltenfilter in einen trockenen Erlenmeyer filtriert, wobei man die ersten 30 ml des Filtrates verwarf. 50 ml des klaren Filtrates wurden genau abgemessen und mit soviel verdünnter Ammoniaklösung versetzt, bis sich das entstandene Kupferhydroxyd gerade wieder aufgelöst hatte. Dabei schied sich

außerdem ein brauner, flockiger Niederschlag ab, welcher auch im Überschuß von Ammoniaklösung bestehen blieb. Es wurde mit Ammoniumchloridlösung (1+3) auf pH 7.5 - 8.0 eingestellt, 4 Tropfen Murexidindikatorlösung hinzugefügt und mit Wasser auf 200 ml verdünnt. Die gelb gefärbte Lösung wurde sofort mit 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung bis zum Farbumschlag nach violett titriert.

T a b e l l e 40a

Bestimmung von Tannin o h n e Natriumazetatzusatz
Einwaage Tannin: 20.00 mg
Zugabe $CuSO_4$-Lösung: 10 ml

Bestimmung	I	II
Überschuß an Cu^{++} in mg	7.29	7.29
Freies Cu^{++} in mg	2.46	2.57
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	7.60	7.42
Gebundenes Cu^{++} in mg	4.83	4.72
Gefunden Tannin in mg, berechnet auf		
a) 1 Mol Cu^{++} : 1 Mol Tannin	129.20	126.30
b) $6\frac{1}{4}$ Mol Cu^{++} : 1 Mol Tannin	20.68	20.21
Fehler $\pm$ %	+ 3.4	+ 1.1

Berechnung: siehe Seite 95

T a b e l l e 40b

Bestimmung von Tannin o h n e Natriumazetatzusatz
Einwaage Tannin: 20.00 mg
Zugabe $CuSO_4$-Lösung: 50 ml

Bestimmung	I	II
Überschuß an Cu^{++} in mg	36.45	36.45
Freies Cu^{++} in mg	31.82	31.66
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	7.29	7.54
Gebundenes Cu^{++} in mg	4.63	4.79
Gefunden Tannin in mg, berechnet auf		
a) 1 Mol Cu^{++} : 1 Mol Tannin	123.90	128.20
b) $6\frac{1}{4}$ Mol Cu^{++} : 1 Mol Tannin	19.81	20.51
Fehler $\pm$ %	- 1.0	+ 2.5

2.) Ausführung m i t Natriumazetatzusatz

10 ml der wässrigen Tannin-Lösung, entsprechend 20 mg Tannin, (siehe Versuch ohne Azetat) wurden mit 100 ml Wasser von 50°C, welches 1 g Natriumazetat enthielt, verdünnt und auf dem Wasserbad bzw. in der Kälte mit 20 ml (geringem Überschuß) (Tabelle 41a,b)bzw. 50 ml (großer Überschuß) (Tabelle 41c und 41d) der eingestellten Kupfersulfatlösung versetzt.

Bei heißer Fällung schied sich sofort ein brauner, flockiger Niederschlag ab. Nach 5 Minuten wurde das Gemisch vom Wasserbad genommen und bei Zimmertemperatur etwa 24 Stunden stehen gelassen.

Bei kalter Fällung ließ man 2 Stunden stehen.

Danach wurde quantitativ in einen 200 ml Meßkolben übergeführt, zur Marke aufgefüllt und nach gutem Durchmischen durch einen trockenen Faltenfilter in einen trockenen Erlenmeyer filtriert. In 100 ml des Filtrates wurde der Überschuß an Kupfer, wie beim Versuch ohne Natriumazetatzusatz beschrieben, ermittelt.

T a b e l l e 41a

Bestimmung von Tannin, Fällung kalt, m i t Natriumazetat
Einwaage Tannin: 20.00 mg
Zugabe $CuSO_4$-Lösung: 20 ml

Bestimmung	I	II
Überschuß an Cu^{++} in mg	14.58	14.58
Freies Cu^{++} in mg	5.65	5.41
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lsg.in ml	14.05	14.42
Gebundenes Cu^{++} in mg	8.93	9.17
Gefunden Tannin in mg, berechnet auf		
a) 1 Mol Cu^{++} : 1 Mol Tannin	239.00	245.40
b) $12\frac{1}{2}$ Mol Cu^{++} : 1 Mol Tannin	19.12	19.63
Fehler ± %	- 4.4	- 1.9

Berechnung: siehe Seite 95

T a b e l l e 41b

Bestimmung von Tannin, Fällung heiß, m i t Natriumazetat
Einwaage Tannin: 20.00 mg
Zugabe $CuSO_4$-Lösung: 20 ml

Bestimmung	I	II
Überschuß an Cu^{++} in mg	14.58	14.58
Freies Cu^{++} in mg	5.11	5.27
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lsg.in ml	14.90	14.65
Gebundenes Cu^{++} in mg	9.47	9.31
Gefunden Tannin in mg, berechnet auf		
a) 1 Mol Cu^{++} : 1 Mol Tannin	253.40	249.20
b) $12\frac{1}{2}$ Mol Cu^{++} : 1 Mol Tannin	20.27	19.93
Fehler $\pm$ %	+ 1.4	- 0.4

Berechnung: siehe Seite 95

T a b e l l e 41c

Bestimmung von Tannin, Fällung kalt, m i t Natriumazetat
Einwaage Tannin: 20.00 mg
Zugabe $CuSO_4$-Lösung: 50 ml

Bestimmung	I	II
Überschuß an Cu^{++} in mg	36.45	36.45
Freies Cu^{++} in mg	27.34	27.34
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lsg.in ml	14.33	14.33
Gebundenes Cu^{++} in mg	9.11	9.11
Gefunden Tannin in mg, berechnet auf		
a) 1 Mol Cu^{++} : 1 Mol Tannin	243.80	243.80
b) $12\frac{1}{2}$ Mol Cu^{++} : 1 Mol Tannin	19.51	19.51
Fehler $\pm$ %	- 2.5	- 2.5

Berechnung: siehe Seite 95

T a b e l l e 41d

Bestimmung von Tannin, Fällung heiß, m i t Natriumazetat
Einwaage: Tannin 20.00 mg
Zugabe $CuSO_4$-Lösung: 50 ml

Bestimmung	I	II
Überschuß an Cu^{++} in mg	36.45	36.45
Freies Cu^{++} in mg	25.65	24.91
Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lsg.in ml	17.00	18.15
Gebundenes Cu^{++} in mg	10.80	11.54
Gefunden Tannin in mg, berechnet auf		
a) 1 Mol Cu^{++} : 1 Mol Tannin	289.00	308.70
b) 15 Mol Cu^{++} : 1 Mol Tannin	19.27	20.59
Fehler $\pm$ %	- 3.6	+ 3.0

Berechnung: siehe Seite 95

XII. Bestimmung des Tannin-Gehaltes in zwei verschiedenen Qualitäten Tannin

Tannin-Qualitäten

I = Tannin "Merck" 773
II = Tannin DAB 6 (Andreae Noris Zahn)

Bestimmung des Trocknungsverlustes: (Trocknen 5 Std. bei 110°)

I = 5.94%
II = 5.30%

1.) Bestimmung nach der Hautpulvermethode

Durch Behandlung einer Gerbstofflösung mit Hautpulver*) wurden die Gerbstoffe quantitativ ausgefällt. Man ermittelt die Gesamtmenge der organischen Stoffe vor der Behandlung und die Menge der Nichtgerbstoffe nach der Behandlung mit Hautpulver. Die Differenz beider Bestimmungen gibt den Gerbstoffgehalt.

*) Hautpulver "Merck"

Arbeitsweise:

a) Bestimmung der Gesamtmenge der organischen Stoffe

Es wurde eine wässrige Tanninlösung hergestellt, welche in 100 ml 4 g Tannin enthielt. 10 ml dieser Lösung, entsprechend 0.4 g Tannin, wurden in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad zur Trockene verdampft und bei 100°C im Vakuum bis zum konstanten Gewicht getrocknet. Auswaage: G = Gesamtmenge der löslichen Stoffe.

Anschließend wurde der Trockenrückstand verascht und bis zum konstanten Gewicht geglüht. Auswaage: A = Aschenmenge.

Gesamtmenge der organischen Stoffe: O = (G - A)

b) Bestimmung der Nichtgerbstoffe

1 g Tannin wurde mit Wasser zu 250 ml (Meßkolben) gelöst. 200 ml dieser Lösung, entsprechend 0.8 g Tannin, wurden unter häufigem Umschütteln eine Stunde mit 10 g Hautpulver*) behandelt und anschließend durch einen Büchnertrichter mit Perlonfilter abgesaugt. Das Filtrat wurde nochmals 24 Stunden mit 4 g Hautpulver behandelt und wieder filtriert. 100 ml des Filtrates, entsprechend 0.4 g Tannin, wurden in einer Porzellanschale auf dem Wasserbad eingedampft und bei 100°C bis zum konstanten Gewicht getrocknet. Auswaage: GN = Gesamtmenge der Nichtgerbstoffe.

Der Trockenrückstand wurde verascht und bis zum konstanten Gewicht geglüht. Auswaage: AN = Aschenmenge der Nichtgerbstoffe.

Nichtgerbstoffe: N = (GN - AN)

In einem Blindversuch wurden die aus dem Hautpulver gelösten organischen Stoffe ermittelt. 200 ml dest. Wasser wurden wie bei der Bestimmung 1 b) behandelt.

---

*) Hautpulver "Merck"

Ergebnisse:

Tannin-Qualität	I in mg	II in mg	Blindvers.
Gesamtmenge der lösl. Stoffe G	374.9	376.2	
Aschenmenge A	0.2	0.2	
Gesamtmenge der organischen Stoffe O = (G - A)	374.7	376.0	
Gesamtmenge der Nichtgerbstoffe GN	73.5	79.4	63.0
Aschenmenge der Nichtgerbstoffe AN	8.2	8.3	8.2
Organische Nichtgerbstoffe N = (GN - AN)	65.3	71.1	54.8

Berechnung: $\text{Gerbstoffgehalt} = \frac{O - (N-B) \cdot 100}{E}$ %

$$I = \frac{374.7 - (65.3 - 54.8) \cdot 100}{400} \%$$

$$= 91.05\%$$
$$= 96.80\% \text{ i.T.}$$

$$II = \frac{376.0 - (71.1 - 54.8) \cdot 100}{400} \%$$

$$= 89.82\%$$
$$= 94.96\% \text{ i.T.}$$

2.) Bestimmung nach der Kupferazetatmethode

Das Tannin wurde mit einer ca. 4%igen Kupfersulfatlösung ausgefällt. Das Kupfertannat wurde auf einem Filter gesammelt und nach Auswaschen des überschüssigen Kupferazetates getrocknet und gewogen. Durch Veraschen und Glühen des Kupfertannates wurde der Kupferoxydgehalt ermittelt. Die Differenz beider Bestimmungen gibt den Tannin-Gehalt.

Arbeitsweise:

0.5 g Tannin wurden im Meßkolben mit Wasser zu 200 ml gelöst. 20 ml dieser Lösung wurden mit 30 ml Wasser verdünnt und in der Kälte mit 5 ml 4%iger Kupferazetatlösung versetzt. Der Niederschlag wurde nach kurzem Stehen (ca. 15 Min.) auf einem bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Filter (im Wägeglas) gesammelt und solange mit Wasser ausgewaschen, bis sich eine Probe des Filtrates mit einigen Tropfen Kaliumferrocyanidlösung nicht mehr rotbraun färbte. Der Niederschlag wurde dann im Wägeglas mit eingeschliffenem Stopfen bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Auswaage: Kupfertannat.

Das Kupfertannat wurde in einen bis zum konstanten Gewicht geglühten Tiegel gegeben, vorsichtig verascht und anschliessend geglüht. Der Glührückstand wurde mit ca. 2 ml konz.Salpetersäure versetzt, auf dem Wasserbad zur Trockene eingedampft und nochmals stark geglüht. Auswaage: Kupferoxyd.

Ergebnisse:	I	II
Auswaage Kupfertannat T	69.0 mg	69.5 mg
Auswaage Kupferoxyd K	23.1 mg	24.7 mg

Berechnung: Tannin-Gehalt $= \frac{(T - K) \cdot 100}{E}$ %

$$I = \frac{(69.0 - 23.1) \cdot 100}{50} \%$$

$$= 91.80\%$$
$$= 97.60\% \text{ i.T.}$$

$$II = \frac{(69.5 - 24.7) \cdot 100}{50} \%$$

$$= 89.60\%$$
$$= 94.62\% \text{ i.T.}$$

3.) Bestimmung nach der komplexometrischen Methode mit Kupfersulfatlösung

Das Tannin wurde mit einer eingestellten Kupfersulfatlösung im Überschuß gefällt und nach Entfernung des Niederschlages das überschüssige Kupfersulfat komplexometrisch ermittelt. Die Differenz an Kupfersulfat gibt mit einem empirisch ermittelten Faktor umgerechnet den Tannin-Gehalt.

Arbeitsweise:

100 mg Tannin wurden mit Wasser zu 50 ml gelöst. 10 ml, entsprechend 20 mg Tannin, wurden mit 90 ml Wasser verdünnt und auf dem Wasserbad auf ca. 70°C erwärmt. Dann wurden 20 ml Kupfersulfatlösung (3 g $CuSO_4$ x 5 H_2O ad 1000 ml) hinzugegeben und solange erwärmt, bis sich ein flockiger Niederschlag gebildet hatte. Man ließ die Fällung über Nacht stehen, dann wurde sie in einen 200 ml Meßkolben übergeführt, das Becherglas mit Wasser nachgespült und zur Marke aufgefüllt. Nach gutem Durchmischen wurde durch ein trockenes Filter in einen trockenen Erlenmeyerkolben filtriert, wobei man die ersten 50 ml Filtrat verwarf. 100 ml des klaren Filtrates wurden mit ca. 4 Tropfen 10%iger Ammoniaklösung versetzt und mit Ammoniumchloridlösung (1+3) auf pH 7.2 - 7.5 eingestellt. Nach Zugabe von 4 Tropfen Murexidindikatorlösung (0.1 g ad 5 ml Wasser) und Verdünnen auf 200 ml wurde die gelb gefärbte Lösung mit 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung bis zum Farbumschlag nach rotviolett titriert.

Tabelle 42

	I	II
Übertitriert: ml 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung (entsprechend 20 ml Kupfersulfatlösung)	23.32	23.32
Zurücktitriert: ml 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung		
1. 2 x 8.21	16.42	
2. 2 x 8.27		16.55
Verbrauch: ml 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung	6.90	6.77

Berechnung:

$$\text{Tannin-Gehalt} = \frac{V^{1)} \cdot Cu^{2)} \cdot F^{3)} \cdot 100}{E} \ \%$$

$$I = \frac{6.90 \cdot 0.6357 \cdot 4.282 \cdot 100}{20} \ \%$$

$$= 93.91\%$$
$$= 99.84\% \text{ i.T.}$$

$$II = \frac{6.77 \cdot 0.6357 \cdot 4.282 \cdot 100}{20} \ \%$$

$$= 92.14\%$$
$$= 97.30\% \text{ i.T.}$$

1) = Verbrauch 1/100 mol. Titriplex-III-Lösung
2) = Äquivalentgewicht des Kupfers
3) = Empirisch ermittelter Umrechnungsfaktor mg Kupfer in mg Tannin
= 6 1/4 Mol Cu^{++} : 1 Mol Tannin
= 397.31 mg Cu^{++} : 1701.2 mg Tannin
$= \frac{1701.2}{397.31} = 4.282$

E = Einwaage

L e b e n s l a u f

Ich, Friedrich Erwin Rentschler, bin als zweites Kind des verstorbenen Pharmazierates Dr.h.c. Erwin Rentschler und dessen Frau Lieselotte geb. Großmann am 16. März 1932 in Laupheim geboren. 1938 kam ich in die Volksschule Laupheim und 1942 in die dortige Oberrealschule. Von 1947 bis 1949 besuchte ich die Schule Schloß Salem, trat 1949 in die Wieland-Oberschule in Biberach/Riss ein und bestand dort 1951 das Abitur.

Im Herbst 1951 trat ich als Apotheker-Praktikant in die väterliche 7 Schwaben-Apotheke in Laupheim ein und legte im September 1953 vor dem Innenministerium von Baden-Württemberg die pharmazeutische Vorprüfung ab.

Mit dem Winter-Semester 1953 begann ich das Studium der Pharmazie an der Eberhard-Karl-Universität in Tübingen und bestand dort im November 1956 das pharmazeutische Staatsexamen.

Seit Januar 1957 arbeite ich an vorliegender Dissertation am Institut für Pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München unter Anleitung von Herrn Professor Dr. L. Hörhammer.

Seit 18. August 1959 bin ich mit Frau Heide geb. Weihenmaier verheiratet und wir haben seit 8. Dezember 1960 einen Sohn.